Aus der Abteilung für Neurologie
im Klinikum Charlottenburg der
Freien Universität Berlin
Leiter: Prof. Dr. D. Janz

Der Nitroblau-Tetrazolium-(NBT)-Test und sein Wert in der Differentialdiagnose entzündlicher Liquorpleozytosen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Egri, Thomas
aus Satu Mare

1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544720_0024

Aus der Abteilung für Neurologie
im Klinikum Charlottenburg der
Freien Universität Berlin
Leiter: Prof. Dr. D. Janz

Der Nitroblau-Tetrazolium-(NBT)-Test und sein Wert in der Differentialdiagnose entzündlicher Liquorpleozytosen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Egri, Thomas
aus Satu Mare

Referent: Professor Dr. D. Janz

Korreferent: Professor Dr. J. Cervós - Navarro

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 28.9.1978

Meiner Mutter in Liebe und Dankbarkeit

gewidmet

Inhaltsverzeichnis

I. Chronologische Entwicklung und Anwendungsgebiete des NBT-Tests, Ergebnisse bei verschiedenen Erkrankungen

II. Der NBT-Test im Blut bei Meningitis

III. Der NBT-Test bei Meningitis im Liquor cerebrospinalis

Tabelle 1 und Tabelle 2: Zusammenfassung falsch positiver und falsch negativer NBT-Werte im Blut mit Literaturhinweisen

IV. Technische Durchführung des NBT-Tests

1. Die stimulierte quantitative spektrophotometrische Methode
2. Die stimulierte zytologische Methode
3. Die spontane Reduktionsmethode
4. Die Methode im Liquor cerebrospinalis

V. Einfluß technischer Faktoren auf die Ergebnisse des NBT-Tests

VI. Auswirkung der Antikoagulantien auf die Ergebnisse des NBT-Tests

VII. Der Mechanismus der NBT-Aufnahme in die Zelle und seiner intrazellulären Reduktion

VIII. Eigene Untersuchungen zur Bestimmung des diagnostischen Wertes des NBT-Tests bei entzündlichen Liquorpleozytosen

1. Technik der aus der Literatur übernommenen Park'schen Methode

a) Ergebnisse, Tabelle 3

b) Diskussion

2. Versuche zur Entwicklung einer neuen Technik für den Liquor

a) Ergebnisse mit und ohne Heparinzusatz, Tabelle 4

b) Ergebnisse mit verschiedenen NBT-Konzentrationen, Tabelle 5

c) Ergebnisse mit der Zytozentrifuge und der Sedimentationskammer, Tabelle 6

3. Technik der von uns für den Liquor modifizierten Methode

a) Ergebnisse, Tabelle 7 und Tabelle 8

b) Diskussion

IX. Zusammenfassung

Literaturhinweise

I. Chronologische Entwicklung und Anwendungsgebiete des NBT-Tests, Ergebnisse bei verschiedenen Erkrankungen

Tetrazoliumsalze, einschließlich Nitroblau-Tetrazolium, fanden bei der Untersuchung von Reaktionen verschiedener Enzyme breite Anwendung. Dies ist deshalb möglich, weil die Tetrazoliumsalze von farblos in das dunkelblaue wasserunlösliche Formazan reduzierbar sind. In der Leukozytendiagnostik wurde das NBT in Verbindung mit der Beschreibung der Pathogenese und genetischen Charakteristika der chronisch-septischen Granulomatose benutzt (6, 7, 9, 11, 56, 57, 66, 73, 74, 95, 107, 113).

Im Zusammenhang mit akuten bakteriellen Erkrankungen wurde der NBT-Test 1968 von Park et al (106) beschrieben. Blut wird mit verdünnter NBT-Lösung inkubiert und der Prozentsatz und/oder die absolute Zahl der Neutrophilen, die eine dunkelblaue Formazan-Ablagerung, die reduzierte Form des NBTs in ihren Zytoplasmen enthalten, berechnet.
Bei Patienten mit bakteriellen Infektionen war der Prozentsatz der NBT enthaltenden Neutrophilen, genannt NBT-positive Zellen, höher als 10%. Bei gesunden Kontrollpersonen und Patienten mit nichtbakteriellen Erkrankungen war er unter 10%. So könnten sich auf dem Gebiet der bakteriellen Erkrankungen drei Anwendungsbereiche für den NBT-Test ergeben:

1. Differentialdiagnose zwischen akuten bakteriellen Erkrankungen und fieberhaften, akuten Zuständen anderer Genese (z. B. Viruskrankheiten, Fieber auf nicht infektiöser Basis).
2. Verlaufskontrolle bakterieller Erkrankungen.
3. Überwachung und Kontrolle besonders infektionsgefährdeter Patientengruppen (z. B. Patienten unter Zytostatika bzw. Immunsupression, Kinder mit Mukuviszidose, Kontrolle von Herzoperierten).

Der NBT-Test ist auch zum Studium der Phagozytoseleistung von Leukozyten anwendbar, weil durch Zugabe von NBT zum Blut, phagozytierbare Partikel gebildet werden, in welchen das NBT als Indikator zum Sichtbarmachen des Phagozytosevorganges benutzt werden kann.

Der stimulierte NBT-Test (109, 124) kann als Index der funktionellen Kapazität der Neutrophilen angesehen werden und erlaubt einen Rückschluß auf die Abwehrlage des Patienten.

Die Einfachheit und die Schnelligkeit mit der der NBT-Test durchführbar ist und seine vermutete diagnostische Bedeutung, führten zu einer Vielzahl von Untersuchungen bei den verschiedensten Erkrankungen.

Viele Arbeiten konzentrierten sich zunächst auf den Wert des NBT-Tests bei der Diagnose und Erforschung der Ätiologie der progressiv-septischen Granulomatose (PSG) der Kinder. Als erste beschrieben Baehner und Nathan (6) 1967 die Unfähigkeit der Leukozyten von Kindern mit PSG, das NBT während der Phagozytose zu reduzieren. Bei dieser Erkrankung, die durch eine ausgeprägte Infektanfälligkeit der Kinder charakterisiert ist, vermögen die Leukozyten zwar das NBT aufzunehmen, es kommt jedoch nicht zu einem Farbumschlag innerhalb der Zellen. Baehner und Nathan (6) führten dies auf eine unzureichende Oxydaseaktivität der Leukozyten zurück und bezeichneten den NBT-Test als eine empfindliche Suchmethode für die PSG.

In einer weiteren Untersuchung, Baehner und Nathan (7) 1968, wird die verminderte Aktivität der NADH-Oxydase für die fehlende NBT-Reduktion durch die Leukozyten bei der PSG verantwortlich gemacht. Sie steigt auch bei Phagozytose nicht an. In der gleichen Arbeit wird der quantita-

tive NBT-Test als sehr nützlich bei der Aufdeckung von asymptomatischen Trägern der Erbanlage für die PSG angesehen. Dabei wurden Leukozyten von Familienmitgliedern der PSG-Erkrankten auf ihre Fähigkeit das NBT zu reduzieren untersucht. Es hatte sich gezeigt, daß bei Konduktorinnen dieser Erbanlage quantitativ weniger Leukozyten in der Lage waren NBT zu reduzieren als bei gesunden Kontrollpersonen. Park et al (107) bestätigten in ihren Untersuchungen die Ergebnisse von Baehner und Nathan (7).

Preisig und Hitzig (73, 113),1971,verwendeten zur Anregung der Phagozytose durch die Granulozyten an Stelle von Latex-Partikeln, abgetötete Candida albicans und stimmten mit den anderen Autoren in der positiven Beurteilung des NBT-Tests überein, sowohl bei der Diagnose der PSG als auch bei der Suche nach Trägern der Erbanlage für diese Leukozytenanomalie in den Familien der Erkrankten. Von gleichen Ergebnissen berichtete auch Stossel (141),1973,unter Verwendung einer wiederum etwas modifizierten Technik. Bercher und Czarnetzki (11),1973,inkubierten Granulozyten von gesunden Kontrollpersonen und PSG-Patienten mit Heparin ohne Zusatz von Partikeln, die von Granulozyten phagozytiert werden und stellten fest, daß die Leukozyten gesunder Kontrollpersonen auch so das NBT zu einem hohen prozentualen Anteil zu reduzieren vermögen. Solche von PSG-Patienten sind dazu nicht in der Lage.

Park, Fikrig und Smithwick (106), 1968, beschrieben als erste den NBT-Test im Zusammenhang mit Infektionskrankheiten. Sie untersuchten Blutproben von Patienten mit einer Reihe von Infektionskrankheiten, Kollagenkrankheiten und gesunden Kontrollpersonen und stellten die Bildung von Formazan fest, das sich als schwarzes Präzipitat in die Zytoplasmen der reifen und juvenilen Neutrophilen, sowie gelegentlich in Monocyten und verklumpten Plättchen, abgelagert hatte. Keine Formazanablagerungen wurden in Lympho-

zyten, Eosinophilen und Erythrozyten beobachtet. Bei den gesunden Kontrollpersonen betrug der mittlere prozentuale Anteil 8,5 %. Patienten mit Kollagenerkrankungen und solche mit Virusinfekten zeigten gleiche Ergebnisse wie die Kontrollgruppe. Merklich erhöht waren sowohl absolute Zahl als auch der prozentuale Anteil der NBT-positiven Zellen bei Patienten mit akuten bakteriellen Erkrankungen. Park et al (106) folgern aus diesen Beobachtungen, daß die Neutrophilen auch ohne Phagozytose bei bakteriellen Infektionen im Blut wie bei Phagozytose verändert werden. Das deutet darauf hin, daß sie unterschiedliche Funktionen in der Abwehr unterschiedlicher Infektionskrankheiten spielen. Park und Good (109), 1970, schlugen später den stimulierten NBT-Test vor und berichteten von einer zweijährigen Erfahrung damit. In dieser Form des Tests wird die NBT-Reduktion durch Zusatz von Endotoxin zum Vollblut stimuliert. Damit könne man, nach Ansicht der Autoren, falschnegative von tatsächlich negativen Resultaten differenzieren.

Matula und Paterson (88), 1970, bestätigten die Beobachtungen von Park et al. Sie untersuchten den NBT-Test bei 24 Patienten mit bewiesenen bakteriellen Infektionen und zählten durchschnittlich 21 % formazanpositive Zellen pro Patient. Gesunde Kontrollpersonen zeigten im Schnitt 2,3 % NBT-positive Leukozyten in ihren Blutproben. In weiterer Beobachtung hatte es sich gezeigt, daß sich die NBT-Antwort auf Normwerte innerhalb von 2-26 Tagen nach adäquater antimikrobieller Therapie abfiel.

Vaocher et al (146), 1970, untersuchten 65 Patienten mit verschiedenen Erkrankungen und 25 Kontrollpersonen. Sie bewerteten den NBT-Test als einen brauchbaren Indikator bakterieller Erkrankungen.

Park et al (110), 1970, wandten mit Hinblick auf die immer noch problematische Diagnostik der bakteriellen Endocarditis den NBT-Test auf Patienten mit bewiesenen und solche mit Verdacht auf bakterielle Endocarditis an und stellten einen deutlichen Anstieg der Leukozyten mit Formazanablagerungen in ihren Zytoplasmen auf durchschnittlich 24,5 % fest. Ferner korrelierte die klinische Antwort auf die Antibiotikatherapie mit den Ergebnissen im NBT-Test.

Eine umfangreiche Studie über den Wert des NBT-Test in der Differenzieldiagnose bakterieller Infektionen veröffentlichten Humbert et al (77), 1971. Sie untersuchten 296 Patienten mit und ohne infektiösen Erkrankungen. Unter den 130 Patienten ohne Infektionskrankheiten zeigten solche mit Osteogenesis imperfecta und ihre Familienangehörigen, sowie Patienten mit Hämophilie erhöhte NBT-Werte in ihren Neutrophilen. Insgesamt 4 % der Nicht-Infektionskrankheiten zeigten NBT-Werte über der Norm und wurden als falsch-positive Ergebnisse eingestuft. Jedoch wiesen die meisten Patienten mit einer bakteriellen Infektion, ca. 83 %, eine erhöhte NBT-Antwort auf. Patienten mit Virusinfekten und mit tuberkulösen Erkrankungen zeigten NBT-Werte im Normbereich. Einige der Patienten wiesen auch sogenannte falsch-negative Werte auf, das heißt, trotz bakterieller Erkrankung normale NBT-Reduktionen auf. Zum Abschluß der Untersuchung kamen die Autoren zum Ergebnis, daß der NBT-Test in der Differenzierung akuter bakterieller Infektionen von Virusinfekten nützlich sei.

Feigin et al (43), 1971, veröffentlichten eine Studie über den prospektiven Wert des NBT-Tests bei fieberhaften Erkrankungen. Auf der Grundlage früherer NBT-Untersuchungen haben sie eine retrospektive Klassifikation der Patienten in vier Gruppen vorgenommen:

Gruppe A = afebrile Kontrollpersonen
Gruppe B = Virusinfekte, effektiv anbehandelte bakterielle Infektionen, Fieber nicht infektiöser Genese
Gruppe C = nicht behandelte bakterielle Infektionen
Gruppe D = erfolglos behandelte bakterielle Infektionen

Sie teilten dann die zu untersuchenden 159 Patienten nach ihren jeweiligen Erkrankungen in eine der obigen vier Gruppen ein und prüften jetzt, ob auch nach dem NBT-Test diese Einteilung aufrechtzuerhalten sei. Es hatte sich gezeigt, daß dies in der überwiegenden Zahl der Patienten auch der Fall war. Die höchste Abweichung gab es in der Gruppe B, von wo 37 % der Fälle nach dem NBT-Test in die Gruppe A einzuräumen waren. Zum Abschluß der Studie bezeichneten die Autoren den NBT-Test als die zuverlässigste und schnellste unter den Laboratoriumseinzelmethoden zur Unterscheidung von Patienten mit bakteriellen Infektionen von solchen mit nichtbakteriellen fieberhaften Erkrankungen.

Die NBT-Antwort, wie sie unter Laborbedingungen zu erhalten sei, hätte eine merkliche Fähigkeit Patienten mit akuten bakteriellen Infektionen von akuten Viruserkrankungen zu differenzieren. Sie wäre in seiner Aussage relevanter als solche traditionellen Indices wie Temperatur und Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen. Eine weitere Gruppe von Infektionskrankheiten, einschließlich von zwei Fällen pulmonaler Nocardiose, gaben NBT-positive Ergebnisse. Nach adäquater antimikrobieller Behandlung fiel die NBT-Antwort schnell auf normale NBT-Werte zurück, was aber noch nicht die Überwindung des Infektes durch den Organismus bedeutete. Demnach wäre eine bestimmte Quantität von stimulierenden Antigenen nötig damit der Test positiv ausfällt.

Nach Matula und Paterson (89), 1971, sind granulomatöse Entzündungen, wie Brucellose und Tuberkulose NBT- negativ.

Trotz eingehender Untersuchungen blieb eine große Zahl von Fragen bezüglich des NBT-Tests mehr oder weniger offen. Darunter auch folgende Fragen:

Gibt es eine positive, negative oder gar keine Wechselbeziehung zwischen der Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen und dem prozentualen Anteil der NBT-positiven Zellen?

Ist der NBT-Test hilfreicher als die Routinezählung der Leukozyten bei der Unterscheidung zwischen bakteriellen und nichtbakteriellen Erkrankungen?

Hat die Körpertemperatur einen positiven, einen negativen oder gar keinen Einfluß auf das NBT-Ergebnis?

Antworten auf diese Fragen zu geben, um daraus den Nutzen des NBT-Tests als diagnostische Hilfe ableiten zu können, war das Ziel einer weiteren Untersuchung von Feigin et al (44), 1971. Was bakterielle Infekte anbetraf, konnten sie die Befunde von Park (106), 1968, bestätigen, jedoch nicht die bei Virusinfekten und Entzündungen anderer Art. Diese konnten, weil der NBT-Test in beiden Gruppen gleichermaßen schwach ausfiel, nicht immer von anbehandelten bakteriellen Infekten auseinandergehalten werden. Bei effektiver Antibiotikatherapie fiel die Anzahl der NBT-positiven Leukozyten rapide ab. Andererseits stieg sie gleich schnell weiter an bei Nichtansprechen der Erreger auf das gegebene Antibiotikum. Daraus leiteten die Untersucher die Abhängigkeit der NBT-Werte von der Dauer der Erkrankung vor Ausführung des NBT-Tests ab. Weiter konnte Feigin zeigen, daß es keinen Zusammenhang zwischen dem prozentualen Anteil der NBT-positiven Zellen und der Anzahl der weißen Blutkörperchen oder der Körpertemperatur gab. Auch diese Untersucher hielten den NBT-Test, wie Humbert et al (76), 1970, für aussagekräftiger als die dazu simultan ausgeführte Leukozytenzählung, jedoch für die Diagnosestellung nicht ausreichend.

Anner et al (3), 1971, fanden den NBT-Test bei bakteriellen Infektionen auf Werte von 10 bis 60 % erhöht und stellten ganz allgemein dazu fest, NBT-positive Tests könnten nur dann entstehen, wenn entweder eine Bakteriämie besteht oder es zu einer Ausschüttung von bakteriellen Toxinen in die Blutbahn kommt. Kleinere lokalisierte Infekte würden mit negativen NBT-Tests einhergehen. Ferner wurde bei lokalisierter Tuberkulose nie ein positiver Test gefunden. Da es sich um einen Infekt mit vornehmlich lymphozytärer Abwehr handelt, erschien dies verständlich.

Durch den Nachweis einer verminderten Aufnahme und Reduktion des NBTs durch die Granulozyten nach einer Maximalstimulation durch E.Coli könnte, nach Anner, eine leukozytenbedingte Infektanfälligkeit aufgedeckt werden.

Park (11), 1971, blickte in seinem Bericht auf eine zweijährige klinische Erfahrung mit dem NBT-Test zurück. Er untersuchte, in Zusammenarbeit mit verschiedenen medizinischen Abteilungen, den Nutzen und die Einschränkung des NBT-Tests als diagnostisches Hilfsmittel. Seiner Meinung nach sollte der NBT-Test nur dann angewendet werden, wenn zwei Voraussetzungen erfüllt sind:

1. Das Phagozytosesystem, sowohl das humorale als auch das zelluläre, des Patienten müßten zum Zeitpunkt des Tests intakt sein.
2. Die Infektion muß in den systemischen Kreislauf eingebrochen sein.

Bei einer großen Anzahl von untersuchten Patienten ergaben sich normale oder annähernd normale Werte bei:

65o gesunden Kontrollpersonen,
68 Fällen mit Fieber und Leukozytose nichtbakterieller Genese, wie rheumatische Arthritis, LE u.a.

85 offenen herzchirurgischen Eingriffen,
14 nichtkomplizierten geschlossenen Frakturen,
75 unkomplizierten Viruserkrankungen, wie Masern, Windpocken, Mumps, Meningoencephalitis und infektiöser Mononucleose.

Merklich erhöhte NBT-Werte wurden registriert bei:

48 bakteriellen Meningitiden,
25 anbehandelten bakteriellen Meningitiden,
8 Osteomyelitiden und septischen Arthritiden,
135 neugeborenen Kindern.

Zusammenfassend beurteilte Park den NBT-Test als sehr nützlich bei der Diagnose und Überwachung von Infektionskrankheiten, wenn die am Anfang aufgeführten Voraussetzengen gegeben sind.

Zu mehr Vorsicht bei der Beurteilung der NBT-Ergebnisse rieten Ng, Chang und Todd (100), 1972, in ihrer Untersuchung und führten eine Reihe von negativen Testergebnissen bei Patienten mit bewiesenen bakteriellen Infekten bei gleichzeitiger Glucocorticoidtherapie auf.

Der NBT-Test sei sehr hilfreich zur Differenzierung von Leukozytosen verschiedener Ursache, zur Überprüfung der Effektivität der Antibiotikatherapie und in der Suche nach Granulozytopathien exogener oder endogener Ursache. Zu diesem Schluß kam Douwes (35), 1972, in seiner Arbeit. Bei über 300 untersuchten bakteriellen Infektionen fanden sich im Durchschnitt 46 % formazanpositive Granulozyten. Von 32 Patienten mit Carcinomen und reaktiven Leukozytosen waren nur 15 % NBT-positiv.

Auf der Suche nach einer einfachen und schnellen Methode zur Differenzierung der Streptokokken-Pharyngitis von Streptokokken-Trägern und Pharyngitiden anderer Genese, wandten Shapera et al (131), 1973, den Test an. Sie untersuchten 38 Studenten mit Symptomen einer Pharyngitis, wie Fieber, Schwellung der Cervicallymphknoten und Halsschmerzen. Bei 20 von ihnen wurde eine Streptokokken-Pharyngitis durch Kultur und Serologie nachgewiesen. Im NBT-Test waren durchschnittlich 6 % der Neutrophilen positiv. Mit Endotoxin stimuliert 42 %. Demnach zeigte es sich, daß trotz systemischer Manifestation mit ausgeprägten Symptomen die Streptokokken-Pharyngitis, nach dem NBT-Test, als lokalisierte Infektion anzusehen sei, weil die Anzahl der reduzierten Granulozyten im Bereich der Norm lagen.

Die Mukoviszidose, zystische Pankreasfibrose, ist eine Erkrankung des Kindesalters, die häufig mit rezidivierenden atypischen bakteriellen Pneumonien einhergeht. Leukozytose, Fieber, auskultatorische und röntgenologische Zeichen fehlen häufig. Die frühe Aufdeckung des Infektes ist bei diesen Kindern aber lebensnotwendig. In einer Studie untersuchten Sullivan et al (144), 1973, die Nützlichkeit des NBT-Tests bei der Überwachung der Antibiotikatherapie bei Patienten mit Mukoviszidose. Sie führten 157 NBT-Tests bei 78 Patienten durch. Die Ergebnisse zeigten einen signifikanten Zusammenhang zwischen bakteriellen Lungenkomplikationen und dem positiven Ausfall des Tests. Sogenannte klinisch stabile Fälle, also ohne Anzeichen einer Pneumonie, ergaben keine erhöhte Anzahl von Formazanzellen. Serienausführungen des Tests waren hilfreich in der Überwachung der Antwort auf die Antibiotikatherapie. Der NBT-Test wäre nach Meinung der Autoren nützlicher bei der Beobachtung der Kinder mit Mukoviszidose als die Leukozytenzählung, die Temperatur oder Veränderungen in der Sputumflora.

Von diesen Resultaten angeregt, wandten Evans et al (40), 1974, im Rahmen der vierteljährlichen Routineuntersuchungen den NBT-Test 269mal bei Mukoviszidose an. Bei den 72 durch die Standardkriterien wie BSG, Leukozytenzahl, Gewichtsverlust und Bakterienkultur diagnostizierten Infektionen fiel der NBT-Test in 21 % der Fälle negativ aus. Insgesamt fiel er 110mal positiv aus, doch waren nur in 57 Fällen auch andere Entzündungszeichen vorhanden. Im Gegensatz zu Sullivan folgern diese Untersucher aus ihren Ergebnissen, daß der NBT-Test nur eine geringe Hilfe bei der Behandlung der zystischen Pankreasfibrose darstelle. Die Hauptursache hierfür läge in den zu häufig vorkommenden falsch-positiven und falsch-negativen Resultaten.

Abweichend von den überwiegend positiven Urteilen und Erfahrungen mit dem NBT-Test brachte Hawkins (69(, 1973, einige Vorbehalte zum Ausdruck. Er bemängelte die unzureichende klinische und technische Abgrenzung und führte auch eine Anzahl falsch-positiver und falsch-negativer Ergebnisse aus der Literatur auf. Wegen der unterschiedlichen Reaktion auf eine Antibiotikatherapie wäre der NBT-TEst zur Überwachung dieser Behandlung auch nicht geeignet.

Mit der letzten Feststellung, daß die Positivität des Tests bei Antibiotikagabe sehr schnell wieder abfällt und keineswegs mit einer klinischen Besserung korreliert, stimmten auch Ridge, Way et al (117), 1973, in einer Antwort auf die Veröffentlichung von Hawkins überein. Sie hielten jedoch die Methode für klinisch ausreichend abgegrenzt und die Interpretation der Ergenisse, im Zusammenhang mit dem klinischen Bild des Patienten, für sehr effektiv.

Eine Reihe von Hepatitisfällen untersuchten Hellum und Solberg (71), 1973. Von 16 Patienten mit akuter Virushepatitis hatten 14 wiederholt positive NBT-Tests. In mehr als der

Hälfte der Fälle fiel die Positivität, parallel zur klinischen Besserung, innerhalb von 4 bis 22 Tagen zur Norm zurück. Im Gegensatz dazu hatten nur 3 von insgesamt 12 Patienten mit chronischer Hepatitis einen positiven NBT-Test.

Eine der Norm entsprechende Anzahl formazanpositiver Zellen beobachteten Goihman-Yahr et al (59), 1973, bei Lepra lepromatosa, obwohl es sich dabei um eine schwere bakterielle Infektion handelt. Zwei Jahre später publizierten Goihman-Yahr et al (60), 1975, eine Untersuchung,bei der die NBT-Reduktion der Neutrophilen an verschiedenen Formen der Lepra erkrankten Patienten bestimmt und mit gesunden Kontrollpersonen verglichen wurde. Zur gleichen Zeit und bei den gleichen Personen wurde auch eine Stimulation der Leukozyten durch Endotoxin vorgenommen. Alle Formen der Lepra bis auf die sogenannte "reaktional lepromatous leprosy (RLL)", die eine deutlich erhöhte NBT-Reduktion zeigte, wiesen normale Werte vor. Bei der RLL handelt es sich um eine Manifestationsform der Lepra, die mit Fieber, Unwohlsein, Neuritis, Irideocyclitis und Erythema nodosum einhergeht.

Bei einer erneuten Anwendung des NBT-Tests auf 223 Personen, darunter gesunde Kontrollpersonen und ein weites Spektrum verschiedener Erkrankungen, stellten Segal et al (123), 1973, eine weite Überlappung der Ergebnisse von den Kontrollpersonen, Patienten mit eitrigen Entzündungen und anderen Erkrankungen fest. Demnach hätte der NBT-Test keine diagnostische Relevanz. Falsch-positive Tests wurden bei entzündlichen Erkrankungen innerer Organe, bei nichtpulmonaler Tuberkulose und, wie schon früher beschrieben, bei Myelofibrose beobachtet. Höhere Werte wurden auch bei Kindern mit akuten nichtentzündlichen Erkrankungen, wie akuten Bronchospasmen, diabetisches Präcoma und Paraffininhalationen gefunden. Diese und die falsch-negativen Resultate bei Patienten mit lokalen Entzündungen und die positve Wechsel-

beziehung zwischen den NBT-Werten und der Anzahl der weißen Blukörperchen bzw. der Granulozyten bei Patienten mit unbehandelten bakteriellen Infektionen legten den Schluß nahe, daß der NBT-Test eher der Ausdruck einer allgemeinen streßhaften Situation sei und keine spezifische Ursache hätte. Die Untersuchung wurde mit der Feststellung abgeschlossen, daß der Test die in ihn gesetzten Erwartungen nicht erfüllt hätte, eine einfache, genaue Methode zur Unterscheidung von bakteriellen und nichtbakteriellen Erkrankungen zu sein.

Zu ähnlichen Vorbehalten kamen Bittner et al (13), 1973, nach einer Untersuchungsserie, bei der sie die Eignung des NBT-Tests als Sieb für bakterielle Erkrankungen in einer erwachsenen Bevölkerung feststellen wollten. Bei den in vier Gruppen eingeteilten 141 Personen fanden sich folgende durchschnittliche NBT-Werte:

Gruppe 1 mit gesunden Personen 4,6 %, Gruppe 2 mit bakteriellen Infektionen 11,3 %, Gruppe 3 mit Infektionen nichtbakterieller Genese 4,4, % und Gruppe 4 mit nichtinfektiösen Erkrankungen 7,1 %.

Auch diese Ergbnisse zeigten eine breite Überlappung zwischen allen vier Gruppen, so daß der NBT-Test eine eindeutige Unterscheidung zwischen bakteriellen Infekten und Erkrankungen anderer Ätiologie nicht ermöglichte. Er konnte nur die Wahrscheinlichkeit steigern, wenn auch andere herkömmliche Entzündungsparameter, wie BSG, Leukozytose und Fieber in diesem Sinne ausfielen.

Fast gleichzeitig mit dieser negativen Beurteilung des NBT-Tests durch Bittner wurde eine voll zustimmende Arbeit von Gordon et al (61), 1973, publiziert. Auch bei ihnen ging es um die Beantwortung der Frage, inwieweit die Routineanwendung des Tests im klinischen Laboratorium

nützlich sei. Dabei ergab sich ein Prozentsatz von 6,1 % bei 60 Kontrollpersonen, 34,2 % bei 56 Patienten mit bakteriellen Infektionen und 8,5 % bei 48 Viruserkrankten. Von der letzten Gruppe zeigten sechs Patienten einen positiven NBT-Test.

Freeman et al (54), 1973, beschrieben zwei Fälle, auf die der NBT-Test wiederholt angewandt wurde. Im ersten Fall war beabsichtigt, die vorteilhafte Anwendung dieser Technik zur Diagnose und Überwachung infektiöser Erkrankungen zu zeigen, mit dem zweiten Fall auf ihre Schnelligkeit hinzuweisen. Beim Fall eins handelte es sich um eine junge Patientin, die post partum und Uterusruptur einen hypovolämischen Schock, einen subphrenischen Abzeß und schließlich eine Zytomegalie entwickelte. Der NBT-Test erlaubte hierbei die Überwachung des immunsupressiven Effektes der verabfolgten Glucocorticoide, eine rasche Diagnose der Sepsis und bei der erneuten Verschlechterung des Zustandes einen Hinweis, daß es sich um eine Viruserkrankung handelte. Es wurden bei der Immunsupression NBT-Werte von unter 5 %, bei der Bakteriämie von über 50 % und bei der Zytomegalie von unter 11 % beobachtet. Die Überwachung der Immunsupression wurde anhand des mit Endotoxin stimulierten NBT-Tests vorgenommen. Bei dem Fall zwei handelte es sich um einen Mann, der nach Ersatz einer Herzklappe mittels NBT-Teste täglich auf Auftreten eines Infektes überwacht wurde. Die am 6. postoperativen Tag aufgetretene Sepsis konnte so schneller erkannt werden. Die NBT-Werte stiegen dabei auf 40 % an. Auch die Wirksamkeit der eingeleiteten antimikrobiellen Therapie ließ sich durch Abfallen der NBT-Werte verfolgen. Nach Meinung von Freeman bestände eine Lücke zwischen der klinischen Medizin und der Bakteriologie, weil die bakteriologischen Diagnosen der Entwicklung des klinischen Bildes nachhinkten. Der NBT-Test könnte helfen diese Lücke zu verkleinern.

Zurückhaltender beurteilten Steigbigel et al (140), 1974, den Test nach dem Vergleich seines Wertes mit den hämatologischen Routineuntersuchungen zur Diagnose infektiöser Erkrankungen. Zu diesem Zweck wurden 285 NBT-Tests ausgeführt. Gleichzeitig Blutkulturen auf Bakterien angelegt, die Zahl der Leukozyten berechnet, Differenzialblutbild angefertigt und die Granulozyten auf das Vorhandensein toxischer Granulationen untersucht. Die Ergebnisse zeigten, daß der NBT-Test von keinem größeren diagnostischen Wert sei als die routinemäßig verfügbaren Informationen aus der Hämatologie. Der NBT-Test fiel in ca. 50 % der Bakteriämiefälle positiv aus, hingegen zeigten in fast 80 % dieser Patienten die herkömmlichen Blutuntersuchungen das Bestehen eines Infektes an.

Nach Durchsicht einiger Arbeiten zum NBT-Test, beurteilten Neuwirtova und Setkova (98), 1974, seinen Wert bei der Diagnose entzündlicher Erkrankungen mit Vorbehalt.

Die Spezifität des NBT-Tests prüften auch Ninane und Schmitz (101), 1974, nach. Sie versuchten postoperative Infektionen frühzeitig damit aufzudecken und stellten fest, daß erhöhte Werte auch in Abwesenheit von Infektionen vorkämen, besonders nach Frakturen, nach größeren Nekrosen und ganz allgemein in der frühen postoperativen Phase. Demzufolge sei der NBT-Test von geringer Spezifität und eher der Ausdruck einer akuten Belastung des Organismus.

Lenney et al (83), 1974, berichteten von Ergebnissen mit dem NBT-Test in einer Kinderklinik. Besonders wurde er auf Kinder,die mit rezidivierenden Infekten in die Klinik eingeliefert werden mußten,angewandt. Die Werte zeigten einen deutlichen Unterschied zwischen bakteriellen und viralen Infekten an. Dabei fielen die Werte bei den Viruserkrankungen so niedrig aus, daß man an eine echte Hemmung des Tests denken mußte. Ein falsch-positives

Ergebnis kam bei diesen Erkrankungen nicht vor. Auffallend niedrige Resultate kamen zunächst bei fünf Kindern mit schweren rezidivierenden Infekten vor. Darunter waren drei Fälle von Septicämie durch Staphylokokken, multiple Abzesse und eine schwere Bronchopneumonie. Nach Wiederholung des Tests,wenige Tage später,zeigten drei dieser Patienten jedoch positive NBT-Werte. Die Untersucher folgerten daraus, daß Bakterien oder ihre Produkte möglicherweise Granulozyten nach der Phagozytose zerstörten und der NBT-Test fiele dadurch negativ aus. Durch Nachlieferung junger reaktionsfähiger Granulozyten könnte wieder Formazan entstehen. Zusammenfassend wird der Test jedoch bei der Behandlung bakterieller Erkrankungen positiv beurteilt.

Bekanntlich äußert sich die Lungenembolie durch Thoraxschmerzen, Fieber, röntgenologischen Verschattungen der Lunge, mit oder ohne Hämoptyse. Gleichermaßen treten diese Symptome bei der lobären Pneumonie auf und gestalten die Diagnose in manchen Fällen extrem kompliziert. Rowan et al (119), 1974, erhofften sich vom NBT-Test eine Hilfe bei dieser Differentialdiagnose. Zu diesem Zweck führten sie den Test bei 71 Kontrollpersonen, bei 14 Patienten mit Lungenembolien und 10 mit lobären Pneumonien aus. Der Anteil der formazanpositiven Granulozyten lag bei der Kontrollgruppe durchschnittlich bei 6,4 % bei der Lungenemboliegruppe bei 7,5 % und bei der Lobärpneumonie bei 42,4 %. Es zeigte sich also ein signifikanter Unterschied zwischen den ersten beiden und der letzten Gruppe. Thromboembolien der Lunge gehen mit normalen NBT-Werten einher, während lobäre Pneumonien mit merklich erhöhten Formazanzellzahlen vergesellschaftet sind.

Dieses Ergebnis wurde von Segal und Levi (125), 1974, nicht akzeptiert und sie führten in einem Brief an, daß die Patientengruppen von Rowan nicht direkt miteinander vergleichbar wären. Patienten nach Operationen oder Geburten mit

Lungenembolien wären mit nichtoperierten Lobärpneumoniefällen nicht vergleichbar, da die Uniformität der Gruppen nicht gewährleistet sei. Sie hielten den NBT-Test weiterhin für wenig wertvoll zur Differenzierung bakterieller Infektionen und nichtbakteriellen Erkrankungen, wie sie es in ihrer Studie (123), 1973, angegeben hätten.

Zum gleichen Resultat wie Rowan, also zustimmend zum NBT-Test, was seine Nützlichkeit bei der Differentialdiagnose zwischen Lungenembolie und Lobärpneumonie anbetrifft, kamen auch Hellum und Solberg (72), 1974, in ihrer Untersuchung. Sie bestimmten den NBT-Test bei 34 Patienten mit Thromboembolie der Lungen, 21 mit Lobärpneumonien und bei 55 gesunden Kontrollpersonen. Bei der Auswertung ergaben sich durchschnittlich 29 % NBT-positive Granulozyten bei der Lobärpneumonie. Dagegen lagen die Werte bei Lungenembolien, mit durchschnittlich 5,1 %, und bei Kontrollpersonen mit 4,5 % im Normbereich.

Eine weitere Überprüfung des diagnostischen Wertes des NBT-Testes bei fieberhaften Erkrankungen unternahmen Schmidt et al (122), 1974, in einer Studie. Es wurden untersucht:

50 gesunde Personen, 17 Viruserkrankungen, 21 bakterielle Infektionen, 11 Fälle von asymptomatischen Bakteriurien, 20 mit nichtinfektiösem Fieber und 4 Infektionskrankheiten anderer Genese.

Der NBT-Test fiel positiv aus in 41 % der Viruserkrankungen, 71 % der bakteriellen Infektionen, in 9 % mit asymptomatischen Bakteriurien und in 50 % aller fieberhaften Erkrankungen nichtbakterieller Ätiologie. Diese Ergebnisse lassen nach Meinung der Untersucher, trotz vieler gegensätzlicher Resultate aus der Literatur die Frage nach den Fähigkeiten des NBT-Tests in der Diagnose von Infektionskrankheiten unbeantwortet und mahnen zur Vorsicht bei der Interpretation

der Werte.

Mit gleicher Zielsetzung wie oben beschrieben, wenden Silva et al (134), 1975,den Test auf 95 Patienten mit verschiedenen Infekten und auf 55 Kontrollpersonen an. In Abweichung von den bisherigen Testmethoden zählen sie jedoch die Granulozyten nicht unter dem Mikroskop einzeln aus (quantitative Methode), sondern messen die optische Dichte der intrazellulären NBT-Präzipitate spektrophotometrisch aus (qualitative Methode). Bei dieser Technik lagen die Werte im allgemeinen niedriger als bei der quantitativen Methode. Unter der Norm lagen zum Beispiel im septischen Schock und bei bakteriellen Endocarditiden. Normwerte wurden bei vielen bakteriellen Infekten registriert, erhöht waren die NBT-Werte bei Retothelsarkom, bei Hodgkin, bei postoperativen Wundinfektionen und Entzündungen der oberen Luftwege. Viele der untersuchten Patienten standen bereits zum Zeitpunkt des Tests unter Antibiotikatherapie, was zum Teil die niedrigen Werte bei bakteriellen Infekten hat herbeiführen können. Den gleichen Effekt hatten wahrscheinlich auch die verabfolgten Glucocorticoide und Cytostatica gehabt. Die Untersucher führten noch eine Reihe falsch-positiver und falsch-negativer Resultate aus der Literatur auf und verneinten zum Schluß die Nützlichkeit des NBT-Tests bei der Diagnose bakterieller Infektionen.

Um den diagnostischen Wert der NBT-Tests bei fieberhaften Zuständen im Kindesalter zu bestimmen, untersuchten Bundy et al (19), 1976, 230 Patienten und Kontrollpersonen. Der durchschnittliche Prozentsatz an Formazanzellen lag in 49 Kindern mit bakteriellen Infektionen bei 73 %, doch hatten 6 Kinder mit ebenfalls bakteriellen Infektionen Werte im Bereich der Norm, die in 80 Kontrollpersonen bei durchschnittlich 15 % festgesetzt worden war. 4 Kinder mit progressiv-septischer Granulomatose zeigten keine NBT-Reduktion in ihren Granulozyten. Auch nicht alle Kinder mit

viralen oder anderen nichtbakteriellen Erkrankungen zeigten normale Werte. Von 28 Patienten mit aseptischen Meningitiden hatten 17 NBT-Werte wie bei bakteriellen Erkrankungen. Aus diesen Ergebnissen zogen die Untersucher die Schlußfolgerung, daß gegenwärtig der Test nur in einer Erkrankung und zwar nur in der chronisch-septischen Granulomatose einen echten diagnostischen Wert besitze. In anderen Situationen würden sich die Werte soweit überlappen, daß sie allenfalls zusätzlich zu den bekannten mikrobiologischen Methoden brauchbar wären.

Erhöhte NBT-Werte bei Viruserkrankungen und zwar bei Viruspneumonien fanden auch Sieber et al (133), 1976.

Außer auf Infektionskrankheiten und zur Funktionsdiagnose der Granulozyten wurde der NBT-Test auf eine lange Reihe von anderen Erkrankungen und Zuständen unterschiedlichster Ätiologie angewandt.

Freeman und King (47), 1972, führten eine Serie von NBT-Tests bei Patienten mit Venenkathetern aus und wollten dadurch Komplikationen durch Infekte frühzeitiger aufdecken. Die Ergebnisse bestätigten diese Annahme und die Untersucher hielten den NBT-Test für einen wirkungsvollen Frühwarner für solche Fälle.

Weil Lymphome und Infektionskrankheiten ähnlicher Zeichen produzierten, stellte ihre Unterscheidung oft ein klinisches Problem dar. Silverman und Redd (135), 1973, untersuchten die Nützlichkeit des NBT-Tests bei der Differenzierung dieser zwei Krankheiten. Sie wandten den Test auf 25 Patienten mit unterschiedlichen Lymphomen aber ohne jegliche Anzeichen von Infekten an. Es zeigte sich, daß bei aktiver Lymphogranulomatose und beim Retothelsakom häufig positve NBT-Werte zu beobachten waren, ohne daß Infektionen vorhanden wären. Aus diesem Grunde sei der NBT-Test zur Unter-

scheidung der Lymphome von Infektionskrankheiten nicht geeignet. Es hatte sich aber gezeigt, daß er ein brauchbarer Indikator der Aktivität dieser Erkrankung sein könnte.

Hartwig und Eibel (68), 1977, untersuchten 6o Patienten mit Lymphogranulomatose. 23,bei denen ein klinisch inaktives Stadium vorlag, wiesen im Mittel einen NBT-Wert von 39 % Formazanzellen auf. Dieser Wert unterschied sich nicht von dem ermittelten Normalwert von 32 %. 37 Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchung in einem floriden Stadium. In dieser Gruppe wurde 31mal ein erhöhter Wert und 6mal ein Normalwert festgestellt. Ein Zusammenhang zwischen dem klinischen Ausbreitungsstadium der Lymphogranulomatose und der Höhe der NBT-Werte ließ sich nicht nachweisen. Das gleiche gilt für die verschiedenen histologischen Typen.

Von positiven NBT-Tests berichtet auch Soonattrakol (138), 1973, bei Lymphomen.

Einige Untersucher befaßten sich mit dem Einfluß von oralen Kontrazeptiva auf die NBT-Ergebnisse. Norden und Reese (102) 1972, fielen die falsch-positiven NBT-Werte bei Einnahme dieser Mittel auf. Von normalen NBT-Ergebnissen berichten Arrowsmith und Morin (4), 1973, bei Einnahme von Progesteronpräperaten. Auch Björksten und Solheim (15), 1973, können die Berichte von Norden und Reese bestätigen. Sie berichten von 36 Frauen die hormonelle Kontrazeptiva einnahmen. Nur in 3 Fällen waren erhöhte NBT-Werte zu beobachten.

33 % der von Ramsdale und Mowbray (116), 1973, untersuchten schwangeren Frauen wiesen NBT-Werte über der Norm auf. Kontrollpersonen zeigten keine erhöhten Formazanzellzahlen, auch wenn sie orale Kontrazeptiva eingenommen haben. Bei Solanki und Cregan (136), 1975, kamen in allen 5 wiederholt untersuchten schwangeren Frauen erhöhte NBT-Werte vor.

Diese Beobachtungen lassen die Schlußfolgerungen zu, daß Schwangerschaft zu den körperlichen Zuständen zu rechnen sei, die einen falsch-positiven NBT-Test hervorrufen könnten.

Einige Untersucher befaßten sich mit dem NBT-Test im Zusammenhang mit Nierenerkrankungen. Anner et al (3), 1971, berichteten von Resultaten bei Patienten mit Niereninsuffizienz. Sie stellten fest, daß die Leukozyten in diesen Fällen das NBT vermindert aufnähmen und zu Formazan reduzierten. Bei Maximalstimulation fanden sie regelmäßig eine starke Verminderung der NBT-Aufnahme und -reduktion.

Winchester et al (156), 1973, bestimmten das Verhalten des NBT-Tests in regelmäßig dialysierten Patienten und stellten bei ihnen eine signifikante Erhöhung der Werte in den Dialyseperioden fest. Waren die NBT-Werte schon prätialytisch erhöht, so entwickelten 50 % dieser Patienten in kürzester Zeit, manchmal schon innerhalb 24 Stunden, auch klinisch eine bakterielle Infektion.

Eine Früherkennung von Infektionen bei urämischen Patienten und bei Nierentransplantatempfängern erhofften sich Wollmann et al (157), 1972, vom NBT-Test und untersuchten 32 Urämiepatienten von denen 23 keine Infektzeichen, 3 viralinfiziert und 6 bewiesen bakteriell infiziert waren. Alle standen unter regelmäßiger Hämodialyse. Alle 10 Nierentransplantatempfänger standen unter immunsupressiver Behandlung. Die Ausszählung der NBT-positiven Zellen ergab Normwerte bei nichtinfizierten und viral infizierten sowie merklich erhöhte Werte bei bakteriell infizierten urämischen Patienten. Auch die Patienten, die immunsupressiv behandelt wurden, wiesen positive NBT-Werte auf, wenn ein bakterieller Infekt bei ihnen auftrat. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu vielen Untersuchungen,die von falsch-negativen NBT-Werten bei Glucocorticoidverabfolgung

berichteten.Demnach wäre der Test hilfreich bei der Behandlung urämischer und unter chronischer Hämodialyse stehender Patienten.

Zum gleichen Ergebnis kamen auch Gordon et al (63), 1974, nach Anwendung des NBT-Tests auf 11 Nierenempfängerpatienten.

Cher et al (132), 1975, untersuchten inwieweit eine Unterscheidung zwischen Infektion und Abstoßung bei nierentransplantierten Patienten mit dem NBT-Test möglich wäre und ob die Immunsupression die Reaktion des Tests auf bakterielle Infektionen verminderte. Bei allen 12 an bakteriellen Infektionen erkrankten Nierenempfängerpatienten waren die NBT-Werte erhöht. 12 Patienten,die Abstoßungsperioden hatten, zeigten normale Werte. Aus den Ergebnissen wurde geschlossen,daß der NBT-Test zur Diagnose von bakteriellen Infektionen bei Allotransplantat-Empfängern mit unterdrückter Immunantwort beitragen könne. Er könne auch eine Hilfe zur Differenzierung zwischen Abstoßung und Infektion bei Transplantatempfängern sein.

Der Wert des NBT-Tests bei Appendicitis wurde von Drysdale (37), 1972, untersucht. Die präoperativen Werte wurden mit den intraoperativ gestellten Diagnosen verglichen. Es ergab sich eine deutliche Überlappung der Werte zwischen entzündeten und nichtentzündeten Appendices. Gleiche Werte wiesen auch Patienten auf, deren Symptomatik ohne eine Operation abgeklungen waren.

Wenger et al (155), 1972, und Douwes (35), 1972, haben gezeigt, daß Leukozyten von Patienten mit Lupus erythematodes eine verminderte Kapazität zur NBT-Reduktion aufwiesen, so daß auch bei bakteriellen Infekten dieser Patienten keinen positiven NBT-Test zeigten.

Einige Untersuchungen beschäftigten sich mit dem NBT-Test im Zusammenhang mit verschiedenen hämatologischen Erkrankungen. Tan et al (145), 1972, fanden eine normale Stimulierbarkeit der Leukozyten und damit erhöhte NBT-Werte nach Latexstimulationen bei Patienten mit Polyzythämia vera, perniziösen Anämien, Plasmozytomen und Lupus erythematodes. In etwas vermindertem Maße, doch deutlich positiv waren die NBT-Werte bei Eisenmangelanämien. Eine signifikante herabgesetzte Phagozytoseaktivität wurde bei Leukozyten von Patienten mit Dowen-Syndrom, akuten Myeloblastenleukämien und chronischen Myelozytenleukämien nachgewiesen. Erniedrigte NBT-Werte kamen bei akuten und chronischen Leukämien vor.

Liakakos und Vlachos (84), 1973, berichteten von eindeutig positiven NBT-Tests bei Kindern mit Thalassämia major ohne Anzeichen von Infektionen. An Sichelzellanämien erkrankte Personen zeigen bekanntlich eine erhöhte Infektanfälligkeit. Die anfänglich sehr zuversichtlichen Berichte über die Fähigkeiten des NBT-Tests, bakterielle Infekte im Frühstadium aufzudecken, veranlassten seine Anwendung auch auf die Sichelzellanämie. So untersuchten Walters und Reddy (150), 1974, eine Reihe solcher Erkrankungen mit und ohne gleichzeitig bestehenden Infektionen. Die Ergebnisse zeigten, daß die Sichelzellanämie die Antwort der Granulozyten auf das NBT nicht beeinflußten. So zeigten Patienten mit Infekten einen positiven NBT-Test mit durchschnittlich 42,7 % Formazanzellen und nichtinfizierte Personen einen negativen Test mit einem Durchschnitt von 9,4 % reduzierten Granulozyten.

Zu einem völlig konträren Schluß bei der gleichen Fragestellung kam Wajima (149), 1975, nach Anwendung des NBT-Tests auf 44 an Sichelzellanämien erkrankten Personen. Er stellte niedrige NBT-Werte auch bei solchen Patienten fest, die sich in einer schweren Krise ihrer Krankheit mit Fieber und Schmerzattacken befanden. In solchen Fällen

lagen die Werte weiterhin im Normbereich und zwar nicht höher als im Durchschnitt 10 %. Diese Werte waren auch im Intervall, also ohne oder nur mit geringen Krankheitssymptomen, nicht niedriger.

Von einem regellosen Verhalten des NBT-Tests bei akuten Leukämien berichteten Lange-Wanzig und Wanzig (80), 1975. Bei 16 erwachsenen Patienten mit akuten Leukämien untersuchten sie die Neutrophilenfunktion mit Hilfe des NBT-Tests, ohne und mit Stimulation durch verschiedene bakterielle Toxine. Die Funktionstests wurden erstmals zur Zeit der Diagnosestellung durchgeführt, später während und nach Behandlung. Ohne Stimulation wurden, sowohl verminderte als auch erhöhte Reduktionswerte für NBT gefunden. Zwei Patienten zeigten konstant eine fehlende NBT-Reduktion. Nach Stimulation lag der Reduktionswert immer unter der Norm. Eine Korrelation zum Auftreten fieberhafter bakterieller Infekte war nicht zu erkennen. Bei 12 der 16 Patienten zeigte sich eine normale Phagozytose-Aktivität der neutrophilen Leukozyten. Die Ergebnisse zeigten, daß der NBT-Test zur Unterscheidung von bakteriell bedingten und nichtbakteriell bedingten Fieberzuständen bei akuten Leukämien nicht geeignet sei.

Bakterielle Sepsis ist die Haupttodesursache bei größeren Verbrennungen. Die Abwehrkraft des Körpers spielt trotz Antibiotika eine entscheidende Rolle. Curreri et al (31), 1973, untersuchten die bakterizide Fähigkeit der Neutrophilen mit dem stimulierten NBT-Test und verglichen sie mit den Resultaten der Bakterienkulturen aus Wundbiopsien. Dies sollte als ein Parameter zu einer genaueren Prognosestellung und einer frühzeitigen Diagnose der Sepsis bei Verbrennungen dienen. Es wurden 30 Patienten mit Verbrennungen von über 30 % der Körperoberfläche untersucht. Die Ergebnisse zeigten, daß die Leukozytenfunktion bei Sepsis im Vergleich mit Leukozyten von Kontrollpersonen ungeschä-

digt war. Ein Wert von weniger als 50 % NBT-positiven Granulozyten bei der Aufnahme des Patienten war fast regelmäßig mit einer Sepsis der Verbrennungswunde korreliert, während ein Wert von höher als 90 % im stimulierten NBT-Test nur eine geringfügige Keimbesiedlung der Wunden anzeigte. Nach diesen Resultaten wäre der stimulierte NBT-Test eine preiswerte und schnelle Methode zur Verfolgung der Bakterienbesiedlung auf Verbrennungswunden und ermöglichte eine frühzeitige Behandlung der septischen Komplikationen.

Den spontanen NBT-Test in Granulozyten von Patienten mit juveniler rheumatoider Arthritis und anderen Bindegewebserkrankungen überprüften John und Oppermann (79), 1975. Sie untersuchten 33 Kinder mit Morbus Wissler, mit mon- bzw. polyarthritischen Form und Übergangsform der PCP. Aus dem positiven Ausfall des NBT-Tests bei 73 % der Kinder mit arthritischen Verläufen ergab sich, daß diese Untersuchungsmethode nicht zur Differenzierung zwischen bakteriell-septischen und rheumatisch-entzündlichen Gelenkerkrankungen benutzt werden kann. Die Patienten mit einer Gelenkmanifestation der jRA zeigten, gegenüber dem Morbus Wissler und der Übergangsform der jRA, prozentual deutlich öfter positive Ergebnisse. Die Tendosynovitis bzw. die unklaren Arthralgien waren im NBT-Test negativ.

Lauter et al (82), 1973, untersuchten das Verhalten der Granulozyten im NBT-Test bei Patienten mit akuten Myokardinfarkten. Alle untersuchten 16 Patienten zeigten positive NBT-Ergebnisse in der akuten Phase ihrer Krankheit. Innerhalb von zwei Wochen fielen die Werte auf die Norm zurück. Es hat sich keine Korrelation zwischen dem NBT-Test, Fieber, Gesamtleukozytenzahl oder den Myokardenzymen gezeigt. Es fiel also nur eine allgemeine Aktivierung der Leukozyten beim Myokardinfarkt auf. Diese Aktivierung scheint nach den NBT-Werten vom Alter des Infarktes abhängig zu sein und mit

dem Stand der maximalen Neutrophileninfiltration in das geschädigte Gewebe zu korrelieren. Der NBT-Test ist demnach im akuten Myokardinfarkt Ausdruck einer Streßsituation des Organismus.

Der Verlauf der NBT-Werte in den ersten 10 Tagen nach dem Myokardinfarkt ist von Shafar et al (130), 1974, verfolgt worden. In den unkomplizierten Verläufen nach dem Infarkt, stellten sich positive NBT-Werte in den ersten Tagen ein, mit abfallender Tendenz schon ab 2. oder 3. Tag an, so daß normale Werte am 8., 9. oder 10. Tag erreicht wurden. Trat ein Reinfarkt auf, so drückte sich das in einem erneuten Anstieg der NBT-Werte aus. Hierbei scheint der Test sehr nützlich in der Überwachung von Infarktpatienten zu sein und besitzt eine prognostische Bedeutung.

Es ist berichtet worden, daß der hämorrhagische Schock die Neutrophilen schädige, eine ausgeprägte Leukopenie hervorrufe und die antibakterielle Resistenz herabsetzte. Die Erkennung und Behandlung der posthämorrhagischen Sepsis ist von anerkannter Wichtigkeit. Der NBT-Test ist als früher Indikator für eine Sepsis aufgezeigt worden. Wie weit dies zutrifft untersuchten Hallett et al (67), 1973, im experimentellen hämorrhagischen Schock bei Hunden. In den Ergebnissen zeigte es sich, daß zwei Stunden nach Hypotonie und dem resultierenden Schocksyndrom die NBT-Reduktion in den Leukozyten des Hundes nicht wesentlich beeinträchtigt wurden. Auf eine Endotoxinstimulation erfolgte eine angemessene positve NBT-Antwort. Daraus wäre zu folgern, daß der Test ein brauchbarer Indikator, sowohl für systemische bakterielle Infektionen als auch für Endotoxemien sei. Nach Reinfusion des im Schockmodell entnommenen Blutes erfolgte eine erhöhte NBT-Reduktion im reinfundierten Blut, was entweder auf eine Bakterieninvasion oder auf eine Störung im Metabolismus der Leukozyten hindeutete.

Palmer, (105), 1974, berichtete in einer Untersuchung von falsch-positiven NBT-Tests bei Alkoholikern.

Wegen der histologischen Ähnlichkeit der Granulome bei Colitis ulcerosa und bei der chronisch-septischen Granulomatose nahmen Ward und Eastwood (151), 1976, ein ähnliches Verhalten im Metabolismus der Leukozyten in beiden Krankheiten an und wandten deshalb den NBT-Test auf diese an. In ca. 50 % dieser Fälle fand sich ein positiver NBT-Test. Es handelte sich hier wahrscheinlich um eine Reaktion auf eine allgemein entzündliche Aktivität oder die Ergebnisse geben der Vermutung neue Nahrung, wonach der Morbus Crohn von einem übertragbaren Agens hervorgerufen wird. In jedem Fall mindert es aber die Spezifität des NBT-Tests als diagnostische Hilfe bei bakteriellen Entzündungen.

II. Der NBT-Test im Blut bei Meningitis

Park et al (106), 1968, berichteten in ihrer Originalarbeit über den NBT-Test im Blut auch von einigen Ergebnissen bei Meningitiden. Bei 19 Patienten mit bakteriellen Meningitiden lagen die NBT-Werte zwischen 18 und 70 % formazanpositive Granulozyten. Dem gegenüber wiesen 8 Patienten mit Mumps-Meningitis Werte zwischen 4 und 12 % auf.

Humbert et al (77). 1971, berichteten von 11 Fällen mit bakteriellen Meningitiden, die alle einen positiven NBT-Test zeigten und von 25 Virusinfektionen des ZNS von denen nur 5 erhöhte NBT-Werte aufwiesen.

Feigin et al (44), 1971, fanden auch in ihren Untersuchungen positive NBT-Werte bei 8 bakteriellen Meningitiden, doch auch einige postive Tests unter den 24 getesteten Virusmeningitiden. Durch den Vergleich der absoluten Zahl mit dem prozentualen Anteil der NBT-positiven Granulozyten, wollte Feigin den diagnostischen Wert des Tests erhöhen. Zu diesem Zweck hat er ein Diagramm konstruiert, mit dessen Hilfe der Patient in eine der vier Gruppen eingeteilt werden könnte:

a) gesunde;
b) Virusinfektionen, anbehandelte bakterielle Infektionen oder nichtinfektiöse Fieberzustände;
c) nicht behandelte bakterielle Infektionen;
d) ineffektiv behandelte bakterielle Infekte.

Dadurch konnte er zeigen, daß es mit Hilfe des NBT-Tests möglich war, effektiv von ineffektiv behandelten bakteriellen Meningitiden zu unterscheiden.

In einer weiteren Publikation berichtete Park (111), 1971, von erheblich erhöhten NBT-Werten in 48 bakteriellen Meningitide und von normalen Werten im Blut bei viralen Meningoencephalitiden.

Einige Autoren haben den Wert des NBT-Test bei Meningitis infrage gestellt. So berichtete Cocchi et al (29), 1971, von 5 frühgeborenen Kindern mit vielfältigen bakteriellen Infekten einschließlich Meningitis mit normalen NBT-Werten im Blut.

Esposito und De Lalla (39), 1972, wandten den Test auf 12 Patienten mit schweren bakteriellen Meningitiden an. Es wurden in 7 Fällen Neisseria meningitides und in 5 Fällen Streptococcus pneumoniae aus dem Liquor angezüchtet. Vor Beginn jeglicher antimikrobiellen Therapie boten alle Patienten NBT-Antworten im Bereich der Norm. Auch während der Antibiotikabehandlung traten nur unwesentliche Schwankungen der Werte auf, doch blieben sie weiterhin unter 11 %.

Von hohen NBT-Werten berichteten Elgefors und Olling (38), 1972, in 4 der 11 untersuchten Patienten mit Virusmeningitiden. Positive Tests zeigten dabei zwei Herpesmeningitiden, eine Mumpsvirusmeningitis und eine Coxsackiemeningitis. Es waren bei diesen Patienten keinerlei Anzeichen einer bakteriellen Infektion vorhanden.

Von großem Nutzen wiederum fanden Fikrig et al (46), 1973, den NBT-Test in Blutgranulozyten bei der Differenzierung von bakteriellen und viralen und tuberkulösen Meningitiden. Diese Feststellung war das Ergebnis einer Untersuchung von 108 Meningitispatienten, darunter 67 virale. 36 eitrige und 5 tuberkulöse Formen. Im NBT-Test zeigten bis auf 2, die im Normbereich lagen, alle eitrigen Formen deutlich erhöhte Formazanzellzahlen, sowohl prozentual als auch in der absoluten Zahl. Alle tuberkulösen Meningitiden waren NBT-negativ. Zwei Patienten, die eine Meningitis durch ECHO-Virus vom Typ 3 erkrankt waren, wiesen positive NBT-Tests auf. Alle anderen von Viren ausgelösten Meningitiden waren negativ, d. h., sie wiesen weniger als 11 % Formazanzellen in ihren Blutproben auf. Die Positivität fiel innerhalb der ersten 48 Stunden nach Be-

ginn einer adäquaten Antibiotikatherapie wieder ab.

Bittner et al (13), 1973, berichteten von 3 bakteriellen Meningitiden und einer Virusmeningitis mit NBT-Werten, die innerhalb der Norm lagen.

Gordon et al (61), 1973, berichteten, daß bei 4 ihrer 16 bakteriellen Meningitiden die NBT-Werte im Bereich der Norm lagen, in einem von 14 aseptischen und in 4 viralen Meningitiden grenzwertig erhöhte Tests vorkamen.

61$^{+}_{-}$ 17 % positive Granulozyten in ihrem Blut wiesen 28 Patienten mit viralen oder aseptischen Meningitiden auf, die von Bundy et al (19), 1976, getestet wurden.

Die Effizienz des NBT-Tests im Blut, bei der Differenzierung der tuberkulösen von der eitrigen Meningitis, untersuchten Chitale et al (24), 1976. Sie wandten den Test auf 30 Meningitiden tuberkulöser und 30 eitriger Genese an. Es zeigte sich, daß die tuberkulösen Formen gleichhohe Werte aufwiesen wie die 30 gesunden Kontrollpersonen, nämlich bis zu 10 % reduzierter Zellen. Die eitrigen Meningitiden waren, mit 14 bis 49 % Formazanzellen, alle eindeutig NBT-positiv. Damit hat sich, nach Chitale, der NBT-Test als wichtiges diagnostischen Werkzeug bei der Diffenzialdiagnose der Meningitis erwiesen.

Zu gleichen Schlußfolgerungen kamen Praharay et (112), 1976, nach Anwendung des Tests auf 12 eitrige Meningitsfälle und 16 tuberkulöse Meningitiden. Die NBT-Werte lagen in gleichen Bereichen wie bei Chitale.

Zurückhaltender in der Bewertung war Gödl (58), 1976, in seiner Veröffentlichung über den NBT-Test in der Diagnostik

der Meningitis purulenta. Bei 53,8 % der untersuchten 26 Kinder war sowohl die absolute wie auch die relative Formazanzellzahl erhöht. 11,5 % zeigten nur einen Anstieg der relativen, 15,4 % hatten nur die absolute Zahl erhöht und bei 19,2 % waren beide Werte im Normalbereich. Während der Anstieg der relativen Formazanzellzahlen für die Diagnose wertvoll ist, kann der Test bei niederer absoluter und relativer Zellzahl bzw. bei alleinigem Anstieg der absoluten Formazanzellzahl zur Diagnosestellung einer bakteriell bedingten Erkrankung nicht verwendet werden.

Die Mehrheit der Autoren, die den NBT-Test im Blut von Meningitispatienten ausführten, verneinen seine Nützlichkeit bei der Differentialdiagnose der eitrigen Meningitis von nichteitrigen bzw. tuberkulösen Entzündungen des ZNS (13, 19, 29, 38, 39, 44, 58, 61, 77). Nur einige wenige halten den Test für brauchbar bei dieser Fragestellung (24, 46, 106,112).

Offenbar zeigt die Meningitis die Tendenz, trotz systemischer Symptome, sich im NBT-Test als lokalisierte Infektion mit normalen NBT-Werten zu manifestieren (13, 29, 39, 61, 158). Dieses Phänomen wurde auch von Shapera et al. (131) bei der Streptokokkenpharygitis beschrieben (s. S. 10).

Tabelle 1

Falsch positive NBT-Tests im Blut

Erkrankungen	Literaturhinweise
Nichtspezifische Virusinfekte	(44), (137)
Akute Virushepatitis	(71)
Mykoplasma-Infektionen	(61), (53)
Virusmeningitis	(44), (77), (38)
Cryptokokkenmeningitis	(137)
Malaria	(2), (25), (89), (137)
Lepra	(59)
Candida-Albicans-Sepsis	(106)
Virusdermatose	(46)
Tuberkulose	(87), (123), (137)
Tuberkulöse Meningitis	(111)
Miliartuberkulose	(111)
Unspezifische Parasiteninfektion	(25)
Toxoplasmose	(3)
Unspezifische Lungenerkrankungen	(77)
Osteogenesis imperfecta	(77)
Polycythämia vera	(5), (91)
Schwangerschaft	(37)
Frühgeborene	(28), (29)
Neugeborene (termingerecht)	(28), (29), (76), (107), (108), (111)
Granulomatöse Vasculitis	(13), (32)
Asthmaanfall	(13)
Dermatitis	(32)
Sichelzellanämie	(137)
Hämophilie	(89)
Leukämie, Lymphome	(22), (91), (135), (137)

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Erkrankungen	Literaturhinweise
Thalassämie	(84)
Neoplasmen	(5)
Psoriasis	(13)
Urticaria	(32)
Penicillinallergie	(13), (32)
Chediak-Higashi-Syndrom	(66)
Erythema multiforme	(32)
Polymyalgia rheumatica	(13)
Rheumatoide Arthritis	(13)
Herzfehler	(77)
Myocardinfarkt	(82)
Lungenembolie	(69)
Colitits Ulcerosa	(13), (151)
Orale Kontraceptiva	(102)
Postoperative Zeit	(101)

Tabelle 2

Falsch negative NBT-Tests im Blut

Erkrankungen	Literaturhinweise
Unspezifische Infekte	(5), (77)
Endocarditis	(13), (100)
Bakterielle Meningitis	(13), (39), (61)
Endometritis	(13)
Streptokokkenpharyngitis	(131)
Pneumonie	(13), (137)
Appendicitis	(37)
Peritonitis bei Nephrose	(43)
Meningitis bei Sichelzellanämie	(46), (111)
Septicämie	(13), (69), (137), (140)
Septicämie bei Immnsupression	(77), (100)
Septicämie bei Urämie	(157)
Osteomyelitis	(77), (89), (137)
Antibiotikatherapie	(54), (117), (120)
Glucocorticoidtherapie	(90), (100)
Phenylbutazontherapie	(35)
Salicylattherapie	(35)
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel	(42)
Hypogammaglobulinämie	(111)
Lipochrome Histiocytose	(111)
Myeloperoxydasemangel	(42)

III. Der NBT-Test bei Meningitis im Liquor cerebrospinalis

Esposito und De Lalla (39), 1972, führten den NBT-Test in die Liquordiagnostik ein. Die 7 von ihnen beschriebenen Tests bei bakteriellen Meningitiden waren streng positiv mit Werten zwischen 80 und 100 % reduzierten Granulozyten. Es fanden sich in dieser Arbeit keinerlei Hinweise auf die technische Durchführung des Tests im Liquor.

Auch Gordon et al. (71), 1973, gaben nur eine kurze Mitteilung über ähnliche Befunde, ohne nähere Zahlen anzugeben.

Den ersten umfassenden Bericht über das Verhalten der neutrophilen Granulozyten des Liquors im NBT-Test bei Meningitis veröffentlichten Zwibel und Schwartzman (158), 1974. Die bakteriellen Meningitiden wurden durch die kulturelle Dokumentation der Erreger aus dem Liquor nachgewiesen und entweder vor jeglicher Antibiotikatherapie oder innerhalb von 14 Tagen nach ihrem Beginn dem NBT-Test unterzogen. Alle 10 kulturell bewiesenen bakteriellen Meningitiden zeigten positive NBT-Tests.Es wurden folgende Ergebnisse beschrieben: Ein Fall von Klebsiella-Meningitis mit 13 % positiven Zellen im Liquor und 10 % im Blut nach 2wöchiger Antibiotikatherapie.

Ein Fall von Diplococcus pneumoniae verursachte Meningitis mit 72 % NBT-positiven Granulozyten im Liquor und 0 % im Blut, nach 2 Tagen antibiotischer Behandlung. Ein zweiter Fall, vom gleichen Erreger verursacht, war mit 35 % positiv im Liquor, es wurde kein Blut in diesem Fall untersucht.

Ein Fall von Bacteroides-Meningitis hatte 75 % positive Neutrophile im Liquor und 21 % im Blut nach 4tägiger Antibiotikabehandlung.

Eine von Neisseria meningitdes verursachte Meningitis hatte 29 % NBT-positive Granulozyten im Liquor und 3 % im Blut, nach 3 Tagen antibiotischer Behandlung.

Ein Fall von Streptococcus-Meningitis hatte 80 % positive Neutrophile im Liquor nach 5 Tagen Antibiotikatherapie.

Drei Meningitiden wurden von Haemophilus influenzae hervorgerufen und hatten 25 %, 27 % und 99 % NBT-positive Granulozyten im Liquor. Kein Blut wurde entnommen.

Eine Coli-Meningitis zeigte 44 % positive Granulozyten im Liquor nach 2wöchiger Antibiotikatherapie.

Sieben Virusmeningitiden, unter anderem durch Varicellen- und Herpes-Viren verursacht, zeigten zwischen 0 und 4 % Formazanzellen im Liquor. Eine Virusmeningitis hatte mit 52 % einen falsch-positiven NBT-Test.

Ein weiterer Fall mit bakterieller Endokarditis und cerebralen Herdzeichen wies 43 % positive Neutrophile im Liquor auf, vier Tage nachdem in der Blutkultur ein Nachweis von Streptococcus viridans erbracht worden war und eine adäquate Antibiotikatherapie begonnen hatte. Es konnte jedoch kein Erreger im Liquor nachgewiesen werden.

Der NBT-Test war negativ in zwei Fällen mit hämorrhagischen Hirninfarkten und bei einem Patienten im Coma hepaticum und Pleozytose im Liquor. Ebenfalls negativ war der NBT-Test in einem Fall von chemischer Meningitis nach Operation eines Cholesteatoms. Zwibel und Schwartzman hielten aufgrund dieser Befunde den NBT-Test für sehr hilfreich bei der Diagnose von bakteriellen Infekten des Zentralnervensystems.

IV. Technische Durchführung des NBT-Tests im Blut

Seit der ersten Beschreibung des NBT-Tests durch Baehner und Nathan (6), wurde eine große Anzahl methodischer Änderungen vorgeschlagen. Grundsätzlich gibt es zwei Richtungen in der Ausführung des Tests, den spontanen und den stimulierten NBT-Test. In der ersten Form wird das NBT mit Leukozyten oder Blut einfach vermischt, im stimulierten Test werden die Granulozyten in vitro durch zugesetzte Partikel oder chemische Substanzen zur Phagozytose angeregt. Ebenfalls gibt es zwei Formen in der Auswertung des reduzierten NBTs, also des intrazellulären Formazans:

1. Die histochemische Methode und
2. die spektrophotometrische Methode.

Die überwiegende Mehrzahl der Untersucher wandte das histochemische Verfahren bei der Auswertung ihrer Tests an und berechnete den prozentualen Anteil oder/und die absolute Anzahl der formazanenthaltenden Granulozyten.

1. Die stimulierte quantitative spektrophotometrische Methode

Dieses Verfahren ist zuerst von Baehner und Nathan (7), 1968, beschrieben worden und stellte die Basis für alle anderen

spektrophotometischen Methoden der Auswertung des NBT-Tests dar. Sie läuft wie folgt ab:

Die Leukozyten werden aus dem Blut isoliert und in einer Glucoselösung suspendiert. NBT-Farbstoff und Latexpartikel werden zugesetzt. Nach einer Inkubationszeit von 15 Minuten bei 37° C wird die Mischung zentrifugiert und das reduzierte NBT chemisch extrahiert. Die Auswertung erfolgt durch Messung der optischen Dichte des extrahierten Formazans. In einer Abänderung werden die Erythrozyten sedimentiert und die Leukozyten isoliert (86, 93, 108, 154).

2. Die stimulierte histochemische Methode

Bei dieser Technik werden die Zellen nicht zerstört und der Farbstoff extrahiert, sondern es werden gefärbte Zellausstriche angefertigt. Die Stimulation und Inkubation erfolgt wie bei der Methode von Baehner und Nathan (7). Die Granulozyten, die Formazan enthalten, werden unter dem Mikroskop ausgezählt. Eine der häufigsten angewandten Methoden des stimulierten NBT-Tests ist die von Gifford und Malawista (56), 1970, zuerst beschriebene Technik. Ein großer Tropfen Blut wird auf einem Deckglas vorsichtig ausgestrichen und anschließend Latexpartikeln und NBT-Lösungen ausgesetzt. Nach einer Inkubationszeit von 20 Minuten bei 37° C wird die Gegenfärbung mit Safraninlösung vorgenommen. Diese Methode ist auch ohne Latexpartikel durchführbar und ergibt dann höhere reduzierte Granulozytenzahlen als die am häufigsten angewandte und von Park et al (106), 1968, beschriebene spontane Methode. Nach Park und Good (109), 1970, ist die Kombination von Heparin mit Latexpartikeln ein sehr effektives Stimulus. Auch andere Stimulanzien sind erfolgreich angewandt worden. Solche waren Pseudomonas aeroginosa (29, 89), abgetötete Candida albicans (73, 113), Streptococcus der

Gruppe D, Staphylococcus aureus und E. Coli (89), Streptolysin O (111).

Der stimulierte NBT-Test bestimmt die Kapazität der Granulozyten auf eine maximale Stimulation mit Phagozytose und Reduktion des NBT-Farbstoffes zu antworten. Er wird bevorzugt bei der Suche nach Patienten mit chronisch-septischer Granulomatose oder deren gesunden Trägern angewandt. Mandell und Fuller (59), 1972, versuchten auch den stimulierten NBT-Test zur Aufdeckung von bakteriellen Erkrankungen zu benutzen. Doch ist von den meisten Untersuchern, die sich mit dem Nutzen des NBT-Tests bei der Differenzierung von bakteriellen und nicht bakteriellen Infekten beschäftigten, der spontane Test von Park et al (106), angewendet worden.Von verschiedenen Untersuchern ist der stimulierte NBT-Test noch zur Bestimmung von Leukozytenfunktionsstörungen angewandt worden, wenn Ergebnisse des spontanen Tests mit den klinischen Zeichen nicht vereinbar waren (90, 109, 111, 120, 147).

3. Die spontane Reduktionsmethode

Die spontane quantitative spektrophotometrische Methode stimmt mit dem von Baehner und Nathan (7), 1968, angegebenen Verfahren des stimulierten Tests überein, nur wird hier kein Endotoxin zugesetzt, so daß die Reduktion spontan abläuft. Wie oben schon erwähnt, ist die von Park et al (106), 1968, zuerst angegebene spontane zytologische Technik die bei weitem am häufigsten angewandte Methode. Sie wird wie folgt ausgeführt:

In eine heparinisierte Spritze wird Blut entnommen. Ein 1 ml Blut wird mit der gleichen Menge NBT-Lösung vermischt und für 15 Minuten bei 37^{o} C inkubiert, anschließend 15 Minuten bei

Raumtemperatur gehalten. Die NBT-Lösung besteht aus dem NBT-Farbstoff, der 0,2prozentig in physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und 1:1 mit 0,15 M. Phosphat-Puffer, mit einem PH von 7,2, vermischt wird. Es werden Ausstriche von dem inkubierten Gemisch angefertigt und nach Wright gegengefärbt. Nur Neutrophile, die eine blau-schwarze Formazanablagerung in ihren Zytoplasmen enthalten, werden als positiv gezählt. Matula und Paterson (89), 1971, modifizierten diesen Ablauf indem sie die Inkubationszeit von 15 auf 25 Minuten erhöhten. Außerdem regten sie das Mitzählen als positiv auch solcher Leukozyten an, die punktförmige Formazanablagerungen enthielten.In weiterem betonen sie die Wichtigkeit eines sehr dünnen Blutàustriches, weil dadurch einer Verklumpung der Zellen entgegengewirkt werden kann. Weitere Abänderungen der Park'schen Methode sind im Laufe der Jahre vorgeschlagen worden. Das Benutzen von Glasbehältern anstelle von Plastikspritzen zur Blutentnahme (4, 47, 49, 54, 82, 157). Verwendung von Kapillar - an Stelle von Venenblut (14, 143). Die Verwendung von EDTA an Stelle von Heparin als Antikoagulantium (61, 117, 123). Die Herabsetzung der NBT-Konzentration in der NBT-Lösung von 0,2 % auf 0,1 % (76, 77, 78, 123, 154). Die Verwendung von Plastikröhren bei der Vermischung der Komponenten (23, 27, 71, 76, 78, 135, 157). Änderung der Färbung zu Methylengrün (47, 49, 50, 54), zu Safranin (61, 137,), zu Eosin-Methylenblau (123). Die Einbeziehung der Monozyten bei der Auszählung der NBT-positiven Zellen (77, 154). Die Abänderung der Pufferlösung, die mit NBT zur NBT-Lösung versetzt wird, in 0,2-prozentige Glucose + 0,6 % NaCl in 1/15 M Phosphat-Puffer mit PH von 7,2 (103). Gordon et al (64), 1975, schlugen das Zytozentrifugieren an Stelle der Blutausstriche vor.

Die quantitative spektrophotometische Methode ist sehr aufwendig und benötigt eine große Blutmenge. Sie ist langwierig und erfordert eine teure technische Ausrüstung. Bei der Auswertung wird die Reduktion außer durch die Neutrophilen,

auch die durch Monocyten, Eosinophilen und auch Blutplättchen mit erfaßt. Dies kann das Ergebnis fälschen. Andererseits werden die Schwankungen, die durch die subjektive Interpretation vorkommen können, ausgeschaltet.

Die zytologische Technik erfordert nur eine kleine Blutmenge, macht keine Sedimentation der Erythrozyten, keine Isolation der Leukozyten, kein Zentrifugieren und keine Extraktion des Formazans notwendig. Die Ergebnisse nach dieser Methode können jedoch erheblich, je nach Übung des Untersuchers, Schwankungen ausgesetzt sein.

Nach einigen Berichten geben beide Methoden, die quantitative spektrophotometische und die quantitative histologische, vergleichbare Resultate (76, 86, 155).

4. Die Methode im Liquor cerebrospinalis

Esposito und De Lalla (39), die als erste über den NBT-Test im Liquor berichteten, gaben die oben beschriebene Methode nach Park (106), modifiziert nach Matula und Paterson (89), an. Eventuelle unterschiedliche Reaktionen der Liquor- und Blutgranulozyten werden nicht erwähnt.

Gordon et al (61), die kurz im Rahmen einer detaillierten Untersuchung des NBT-Tests im Blut, auch über Versuche im Liquor berichteten, gaben keine Abänderungen der auf das Blut entwickelten modifizierten Park'schen Methode an.

Zwibel und Schwartzman (158), die ersten die eine Arbeit über den NBT-Test nur im Liquor veröffentlichten, arbeiteten auch mit der modifizierten Park'schen Methode. Auch sie machten keine Angaben über etwaige Unregelmäßigkeiten bei der Anwendung dieser Methode im Liquor.

V. Einfluß technischer Faktoren auf den NBT-Test

Die Art der Blutentnahme,und auch das Material des Systems mit dem das Blut entnommen wird, scheint die Ergebnisse des NBT-Tests zu beeinflussen. Nach Bjorksten (14) 1973, sind die Resultate aus dem Kappilarblut niedriger als die aus dem Venenblut. Der Gebrauch von Plastik- oder Glasspritzen zur Blutentnahme haben nach einigen Autoren keine Einfluß auf die Ergebnisse (4, 47, 49, 54, 157). Lauter et al (82), berichten dagegen von höheren Werten bei der Benutzung von Glasspritzen zur Blutentnahme.

Nach Bjorksten (16), 1974, könnten Blutproben von gesunden Kontrollpersonen mit normalen NBT-Werten bei 4^{o} C für mindestens 12 Stunden gelagert werden, ohne daß dies einen Einfluß auf das NBT-Reduktionsvermögen der Granulozyten hätte. Eine Lagerung bei 22^{o} C dagegen bewirkte eine Erhöhung der Anzahl der NBT-positiven Leukozyten bei gesunden Personen. Wenn Blutproben von bakteriell infizierten Patienten, also mit erhöhten NBT-Werten, über 12 Stunden bei 4^{o} C aufbewahrt werden, so sinken die Werte bis auf die Norm ab und ein falsch-normales Ergebnis kann vorgetäuscht werden.

Die von Park (106) in seiner Originalarbeit angegebene Inkubationszeit von 15 Minuten ist von Matula und Paterson (89),

auf 25 Minuten bei 37° C modifiziert worden. Charette und Komp (23), 1972, haben gezeigt, daß in einem Luftinkubator 22 Minuten, in einem Wasserbad nur 8 Minuten und einem Thermalblock immer noch 4 Minuten benötigt werden, bis das inkubierte Gemisch die erforderlichen 37° C erreicht hat. Die gleichen Untersucher weisen auch auf die unterschiedlichen NBT-Werte nach Inkubationen für eine bestimmte Zeit in jedem dieser Systeme hin. Auch Bjorksten (16), weist auf das schnellere Erreichen der Inkubationstemperatur im Wasserbad, verglichen mit dem Luftinkubator, hin und hält eine Inkubationszeit von 25 Minuten für optimal.

Die Endkonzentration des NBT-Farbstoffes in der Testlösung ist nach der Park'schen Methode 0,05 %, in der Methode von Wenger und Bole (154), 0,025 %, Segal et al (123), haben wieder 0,05 %, Gordon et al (61), dagegen schon 0,10 %.

Das Zentrifugieren in der Zytozentrifuge, zur Anfertigung des zytologischen Präparates, hat keinen Einfluß auf das Endergebnis (64).

In der Beurteilung der Granulozyten, welche als NBT-positiv zu betrachten sind, gab es im Laufe der Jahre auch unterschiedliche Meinungen. NBT-positiv wurden ursprünglich nur homogene, solide Formazanklumpen enthaltende Zellen definiert (106). Matula und Paterson (89), sahen auch punktförmige Ablagerungen in den Zytoplasmen der Granulozyten als positiv an. In jedem Fall hängt das Ergebnis im quantitativen zytologischen Test erheblich von der subjektiven Bewertung der einzelnen Untersucher ab. Segal et al (123), haben eine gute Übereinstimmung in der Zahl der NBT-positiven Zellen, die von geübten Untersuchern ausgezählt worden sind, gefunden, dagegen eine geringere Übereinstimmung bei ungeübten. Eine Mitberücksichtigung der Monozyten würde die Anzahl der NBT-

positiven Zellen um ca. 7% erhöhen (77).

VI. Die Auswirkung der Antikoagulantien auf die Ergebnisse des NBT-Tests

Fibrinogen und Heparin scheinen sich auf dem Deckglas zu verklumpen und bereiten größere Schwierigkeiten bei der Auszählung der Zellen. Nach Park und Good (109), waren die NBT-Ergebnisse niedriger, wenn an Stelle von Heparin EDTA als Gerinnungshemmer bei dem mit Endotoxin stimulierten Test benutzt wurde. Eine Erhöhung dieser herabgesetzten Empfindlichkeit soll durch Zugabe des Saccharose-Polymers "Ficoll" zum EDTA enthaltenden Gemisch wieder erreicht werden können (61). Dem gegenüber berichteten Segal et al (123), von größeren Diskrepanzen in den Ergebnissen bei der Anwendung von Heparin einerseits und EDTA/Ficoll andererseits als Gerinnungshemmer beim NBT-Test im Blut. Hellum und Solberg (70), berichteten über die Hemmung des NBT-Tests bei Anwendung verschiedener Antikoagulantien die Calzium binden. Park und Good (109), die auch solche Gerinnungshemmer anwandten, fiel eine solche Wirkung nicht auf. Hellum und Solberg (70), untersuchten die Wirkung unterschiedlicher Heparinkonzentrationen auf den NBT-Test und stellten eine Konzentration von 10 IU pro ml Blut als optimal heraus. Im Gegensatz dazu demonstrierten sie eine breite Überlappung der Ergebnisse zwischen gesunden Kontrollpersonen und Patienten mit bakteriellen Infekten, wenn Heparinkonzentrationen von 100 IU und 500 IU pro ml Blut benutzt worden waren. Die Konzetration von 10 IU pro ml scheint auch für den stimulierten Test optimal zu sein. Auch Bjorksten (16), fand eine Heparinkonzentration von 10 - 20 IU für die am wenigsten das Ergebnis beeinflussende Menge.

VII. Der Mechanismus der NBT-Aufnahme in die Zelle und seiner intrazellulären Reduktion

Der Mechanismus, welche die NBT-Reduktion bewirkt, ist anfangs wenig verstanden worden. Ein NBT-Reduktionsvermögen ist bei Neutrophilen, Eosinophilen und auch Monozyten gezeigt worden (95, 99, 154). Auch Blutplättchen können eine Reduktion bewirken (99). Neutrophile, die toxische Granulationen enthalten, vermögen das NBT in einem erhöhten Maße zu reduzieren (103, 91). Reife und bandförmige Neutrophile reduzieren mehr als Myelocyten und Metamyelocyten wogegen Promyelocyten und Myeloblasten gar nicht zu reduzieren vermögen (81). Granulozyten von Patienten mit chronisch-septischer Granulomatose können das NBT nicht reduzieren (7, 56, 72, 76, 77, 78, 93, 95, 107, 109). Für die Bildung des Formanzans ist wahrscheinlich ein intrazelluläres Enzym verantwortlich. Anfänglich wurde angenommen, der Farbstoff könne durch die äußere Zellwand der Neutrophilen penetrieren. Infolge der Phagozytose würde eine Permeabilitätserhöhung und eine enzymatische Aktivierung stattfinden (111). Die ursprüngliche Theorie, daß das NBT durch die Zelle nur bei Phagozytose aufgenommen werden könne (108, 95), ist später wiederlegt worden (78, 107). Park und Good (109), glaubten, Komplement sei zur NBT-Reduktion nötig. Segal und Levi (124), verneinen diese Annahme. Weil Freeman und King (52), falsch negative NBT-Werte bei Patienten mit Hypogammaglobolinämie feststellten, glaubten sie, Gammagloboline spielten eine funktionelle Rolle bei der NBT-Reduktion. Segal und Levi (124), unternahmen eine sehr ausführliche Studie über den Aufnahmechanismus des NBTs in die neutrophilen Granulozyten und es gelang ihnen eine Antwort auf einige offene Fragen zu geben. Demnach hat das NBT zwei Wirkungen: Es bewirkt die Präzipitation von makromolekularen Komplexen, deren Natur von dem verwendeten Antikoagulanzium abhängt. Im Falle des

Heparins, beide Heparin und Fibrinogen werden präzipitiert, bei Verwendung von EDTA, Fibrinogen allein wird ausgefällt. Die Tatsache, daß das NBT aus dem makromolekularen Präzipitat nicht lysiert werden konnte, deutet daraufhin, daß es weder gebunden noch eingeschlossen ist. Mit der Phagozytose dieses Komplexes erfolgt gleichzeitig die Aufnahme des NBT-Farbstoffes in die Zelle, wo dann durch enzymatische Reduktion die blau-schwarze Verfärbung entsteht. Die auf dieser Weise erfolgte NBT-Aufnahme in die Zelle würde die bizarren Formen, die das Formazan innerhalb der Zellen einnimmt, erklären. Auch die häufig beobachtbare Aufreihung von Granulozyten um ausgefälltes Material herum, ist erklärlich, wenn man einen Phagozytoseversuch dieser Komplexe durch die Granulozyten annimmt. Die Aufnahme des NBTs in kristalliner Form durch die Neutrophilen ist nicht signifikant, so daß auch keine nennenswerte NBT-Reduktion folgt, wenn Tests ohne Fibrinogen und Heparin erfolgen. Positive NBT-Tests hängen von der Phagozytoseaktivität der Neutrophilen ab. Sie ist nicht mit der vollzogenen Phagozytose gleichzusetzen, sondern bedeutet eher eine Phagozytosebereitschaft. Die vorherige Aufnahme von Bakterien oder anderen Mikroorganismen soll nicht unbedingt die Voraussetzung einer NBT-Reduktion sein (78, 107). Es scheint vielmehr eine allgemeine Stimulation der Granulozyten anzugeben.

Czarnetzki et al (33), können die Befunde von Segal und Levi bestätigen, daß das NBT nur als Komplex mit Heparin oder Fibrinogen von den Granulozyten aufgenommen werden kann. Sie untersuchen weiter die Wirkung von anderen Polyanionen als Heparin auf die NBT-Reduktion und stellen fest, daß auch diese, nämlich Chondriotinsulfat A und Chondriotinsulfat B, eine erhöhte NBT-Reduktion bewirken können. Alle diese Feststellungen werden nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen gestellt.

In einer weiteren Studie untersuchen Segal und Levie (128), 1975, Faktoren, die den Eintritt des NBT-Farbstoffes in die neutrophilen Granulozyten beeinflussen. Sie fanden, daß Seren von erkrankten Patienten die Fähigkeit besitzen, den NBT-Test bei gesunden Personen zu stimulieren. Der Grad dieser Stimulation hängt von dem Wert des NBTs im erkrankten Patienten ab und korrelliert eher mit der Schwere der Erkrankung als mit ihrer Spezifität. Eine deutliche Stimulation in Vitro konnte auch durch Orosomucoid, ein Protein der akuten Reaktionsphase, festgestellt werden. Dieser Antrieb der NBT-Reduktion, die Konzentrationsabhängig ist, wird auch beim Erhitzen auf 56° C für 30 Minuten beibehalten, erlischt jedoch bei Zusatz von Protaminsulfat. Die durch Endotoxin bewirkte NBT-Stimulation kann andererseits durch das Protaminsulfat nicht aufgehoben werden. Adrenalin und Noradrenalin regen die NBT-Reduktion an, Hydrocortison vermindert sie. Parallel zur Steigerung der Heparinkonzentration pro ml Blut, bis ca. 100 IU, steigt auch der Anteil der NBT-positiven Zellen an, um bei weiterer Heparinzugabe wieder abzufallen. Hohe Heparinkonzentrationen haben einen weiteren Effekt auf die Zellen. Sie werden geschädigt, verklumpen und ihre Anfärbbarkeit nimmt ab.

Segal und Levi entnehmen Leukozyten aus dem Knochenmark und stellen eine herabgesetzte NBT-Reduktion in diesen Zellen fest. Bei genauer Beobachtung hat es sich ergeben, daß diese verminderte Bildung von intrazellulärem Formazan auf die herabgesetzte Phagozytoseleistung der Knochenmarkgranulozyten zurückzuführen war. Wenn im Laufe langandauernder Infekte ein Großteil der weißen Blutkörperchen jugendlichen Typs werden, ist infolge der verminderten Phagozytose dieser Zellen, das Zustandekommen falsch-negativer Ergebnisse verständlich. Die Autoren folgern aus ihren Ergebnissen, daß der NBT-Test nur dann positiv ausfallen kann, wenn ausreichend Zeit zur Ansammlung stimulierender Faktoren vorhanden war und es noch nicht zur Ausschwemmung jugendlicher

Zellen oder Auftreten anderer zellulärer Dysfunktionen gekommen war. Andere Untersucher wie Ridgway und Johnson (117), Rubinstein und Pelet (120), und Hawkins (69), weisen auf ein gehäuftes Auftreten von falsch-negativen NBT-Tests bei massiver Antibiotikatherapie hin.

Die Wechselwirkung zwischen Zellschädigung und dem quantitativen NBT-Test untersuchen in einer Studie wieder Segal und Levi (127), 1975. Sie stellen die Toxizität des NBT-Farbstoffes für die Leukozyten fest. Sie äußert sich in der vermehrten Freisetzung von LDH aus den Zellen, die dem NBT ausgesetzt worden waren. Endotoxin oder Latexpartikel bewirken eine solche Schädigung nicht. Die Autoren regen eine Standardisierung der NBT-Reduktion als Funktion der LDH-Freisetzung an und glauben damit die Empfindlichkeit des NBT-Tests erhöhen zu können. Diese LDH-Freisetzung soll zur NBT-Reduktion proportional sein.

Mac Call et al (92), 1974, können in einer Arbeit über die biologische Basis der erhöhten histochemischen NBT-Reduktion, die Ergebnisse von Segal und Levi (124), bestätigen, daß das NBT nur in einem Makrokomplex, entweder mit Heparin oder mit Fibrinogen von den Granulozyten aufgenommen werden kann. Dieser Mechanismus wird durch Komplement gefördert. Aus seiner früheren Beobachtung, daß das Auftreten toxischer Granulationen in den Neutrophilen mit erhöhter NBT-Reduktion einhergeht (91), folgerte Mac Call eine Alternation die Zelloberfläche sei für die erhöhte Phagozytoseleistung dieser Zellen verantwortlich.

Baehner et al (9), 1976, gelingt es in einer subtilen Untersuchung die enzymatische Grundlage der intrazellulären NBT-Reduktion zu klären. Demnach sind Zellen unter anaeroben Bedingungen nicht zur Erzeugung des Superoxydanions (O_2^-) in der Lage und können das NBT nicht zu Formazan reduzieren.

Eine solche Reduktion in phagozytierenden Granulozyten ist aber nur durch die sauerstoffabhängige, superoxydanionerzeugende Oxidase möglich. Diese fehlt in den Leukozyten der an chronisch-septischer Granulomatose erkrankten Kinder. Die intrazelluläre Lokalisation der Reduktion ist noch nicht ganz klar. Nach lichtmikroskopischen Untersuchungen schienen sie in den Vakuolen gelegen zu sein (95). Elektronmikroskopisch im endoplasmatischen Retikulum (78).

VIII. Eigene Untersuchungen zur Bestimmung des diagnostischen Wertes des NBT-Tests bei Liquorpleozytosen

1. Technik der aus der Literatur übernommenen Park'schen Methode

In der Absicht den Wert des NBT-Tests in der granulozytären Pleozytose des Liquor cerebrospinalis zu überprüfen, führten wir ihn in seiner quantitativen zytologischen Form durch. Besonders wollten wir eine bakterielle von einer Fremkörper-Pleozytose, wie sie z.B. nach operativen Eingriffen am Gehirn auftritt, differenzieren. Alle bisher publizierten Arbeiten über den NBT-Test im Liquor (S.31-33) beschäftigten sich ausschließlich mit den verschiedenen Formen der durch Bakterien und Viren verursachten Meningitiden. Die von uns untersuchten Patienten waren in über 80 % der Fälle in der Behandlung der neurochirurgischen Klinik des Klinikum Charlottenburg der FU. Wie aus den aufgeführten Diagnosen der einzelnen Patienten in den Tabellen Nr. 3, 7 und 8 hervorgeht, waren die meisten in einem postoperativen Zustand nach chirurgischem Eingriff am Gehirn. Der Rest der Patienten war stationär entweder auf der neurologischen Abteilung oder auf der Infektionsstation der inneren Abteilung der gleichen Klinik aufgenommen.

Neben einer Pläozytose von über 150 Zellen/$_3$ waren Fieber und das klinische Bild einer Entzündung des ZNS weitere Auswahlkriterien der Patienten.

Die Liquorentnahme erfolgte in sterile Glasröhrchen in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle durch Lumbalpunktion. Bei einigen Patienten wurde eine Ventrikelpunktion vorgenommen. Die Untersuchung des Liquors wurde in einem nur mit der Liquordiagnostik befaßten Speziallabor des Klinikum Charlottenburg der FU, spätestens 2 Stunden nach seiner Entnahme

ausgeführt.

In einem Zeitraum von über zwei Jahren fertigten wir aus Liquorpunktaten von 65 Patienten 150 zytologische Präparate an und werteten sie mikroskopisch aus.

Den quantitativen zytologischen NBT-Test führten wir zunächst nach der von Park et al(106) 1968, angegebenen und von allen bisher bekannten Untersuchern des NBT-Tests im Liquor angewandten Methode durch (39, 89, 61, 106, 158). Besonders richteten wir uns nach der Arbeit von Zwibel und Schwartzman (158), 1974, die die einzige umfangreichere Publikation über den NBT-Test im Liquor cerebrospinalis darstellt.

Der NBT-Test ist demnach nach folgendem Arbeitsgang ausgeführt worden:

1. Herstellung einer 0,2prozentigen NBT-Lösung aus dem NBT-Farbstoff und physiologischer Kochsalzlösung.
2. Die 0,2prozentige NBT-Lösung mit gleicher Menge Phosphat-Puffer vermischt, ergab die sog. "Working NBT-Solution".
3. 1 ml Liquor wird mit einem 1 ml "Working NBT-Solution"
4. bei 37° C für 25 Minuten in Thermostatluftinkubator inkubiert und anschließend
5. 15 Minuten bei Raumtemperatur gehalten.
6. Färbung nach Pappenheim.

Die zytologischen Präparate wurden in der Sedimetationskammer nach dem modifizierten Sayk'schen Prinzip angefertigt.

Die Auszählung der Zellen wurde bei 1000facher Vergrößerung mit einem Leitz-Mikroskop, Typ Orthoplan, vorgenommen.

Als NBT-positiv bewerteten wir Granulozyten, die entweder eine große homogene oder in großer Zahl kleine punktförmige Formazanablagerungen in ihren Zytoplasmen enthielten. Als NBT-negativ wurden alle Granulozyten, die entweder gar keine oder nur einige wenige punktförmige Formazanablagerungen enthielten,angesehen. Als negativ wurden ferner auch die Monozyten und die gelegentlich angefärbten Lymphozyten gewertet.

Bei Auszählung von 100 Granulozyten berechneten wir den prozentualen Anteil der NBT-positiven Zellen. Der Test wurde bei über 11 % Formazanzellen als positiv, darunter als negativ bewertet.

1 a) Ergebnisse

Nach dieser Methode führten wir den Test bei 37 Patienten 51 mal durch.

Eine geringe methodische Modifikation nahmen wir nach 15 Testen vor, als aus einer Untersuchung von Charette und Komp (23), der günstigere Einfluß der Inkubation im Wasserbad zum Vergleich zum Luftinkubator hervorging (siehe auch S. 38-40).Alle weiteren Tests wurden im Thermostatwasserbad inkubiert. Wie aus der Tabelle Nr. 3 hervorgeht, konnten nur in 4 Fällen NBT-Werte von über 11% positiven Granulozyten beobachtet werden. Von diesen waren 2 mit jeweils 12 % als grenzwertig anzusehen. In 23 Fällen sogar waren überhaupt keine Granulozyten mit intrazellulären Formazanablagerungen zu beobachten. In 24 Tests lagen die Werte zwischen 2 % und 9 % positiven Granulozyten,so daß insgesamt der NBT-Test als negativ zu bewerten war.

Tabelle 3

Ergebnisse nach der Park'schen Methode

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
1	23	Hirnabzeß m. Einbruch i. d. Ventrikelsystem	12	2240	540	32	4	blutiger Liquor
1a	"	"	13	431	340	41	7	
2	37	Rezv. Meningitiden n. fronto-bas. Fraktur u. Liquorfistel	28	5372	204		6	
2a	"	"	32	3232	114	74	5	
3	35	Subdurales Hämaton	3	766	140		5	blutiger Liquor
4	33	Frontobas. Schädelhirnverletzung	3	143	99	100	0	blutiger Liquor
5	64	Zust. n. Op. eines lat. Keilbeinmeningeoms, Subdurales Hämatom	4	710	122	81	2	blutiger Liquor
6	27	Meningitis nach Op. eines Meningeoms	10	992	220	59	2	
6a	"	"	14	242	122	73	0	

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NTB pos. %	Bemerkungen
7	49	Meningitis n. Schädelhirntrauma u. Op.	4	1292	250		0	
8	63	Hirninfarkt	1	8200	337	115	0	
9	37	Knocheldeckeltransplantation	22	2864	57	0	2	Eosinophile Pleozytose
10	55	Inoperables Schmetterlingsglioblstom		195	142	47	0	
11		Meningitis n. Hirnop.	6	6272	428	17	0	
11a		"	36	252	237	19	0	
12	33	Zust. n. Op. eines Oligodendroglioms	4	1630	53		0	
13	42	Zust. n. Op. eines ateriovenösen Ranke-Angioms	12	379	179	68	4	Liquor blutig

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
14	6	Meningitis n. Op. einer Arachnoidalzyste	4	15168	400	0	17	Liquor sehr blutig
15	39	Subarachnoidalblutung		1700	103		3	Liquor blutig
16		Zust. n. Op. eines Neurinoms		2096	117	47	0	
17		Meningitis n. Op. eines Schmetterlingsglioblstoms	2	11200	367		9	Liquor blutig
17a		"	8	131	313	63	6	Liquor blutig
17b		"	13	4840	534	0	18	Liquor sehr blutig
18	28	Mylepsinintoxikation Epilepsie	2	3600			0	
19	32	Hirnabzeß, Meningoenzephalitis	1	265	Pandy +++	102	0	

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
20	61	Zust. n. Hirnop.		6656	126	81	0	Liquor blutig
21	2	Hydrozephalus, chron. Meningitis n. Ventilausfall, angeb. Toxoplasmose	3	1972	73		0	
21a	"	"	33	1480	128	45	0	Liquor blutig
21b	"	"	37	3040	125	45	0	
21c	"	"	38	2768	147	49	0	
21d	"	"	39	2384	152	97	0	
21e	"	"	45	238	174	49	0	
22				2352	118	45	4	Liquor sehr blutig
23	11	chron. Meningitis b. Hydrozephalus		3082	477	46	5	

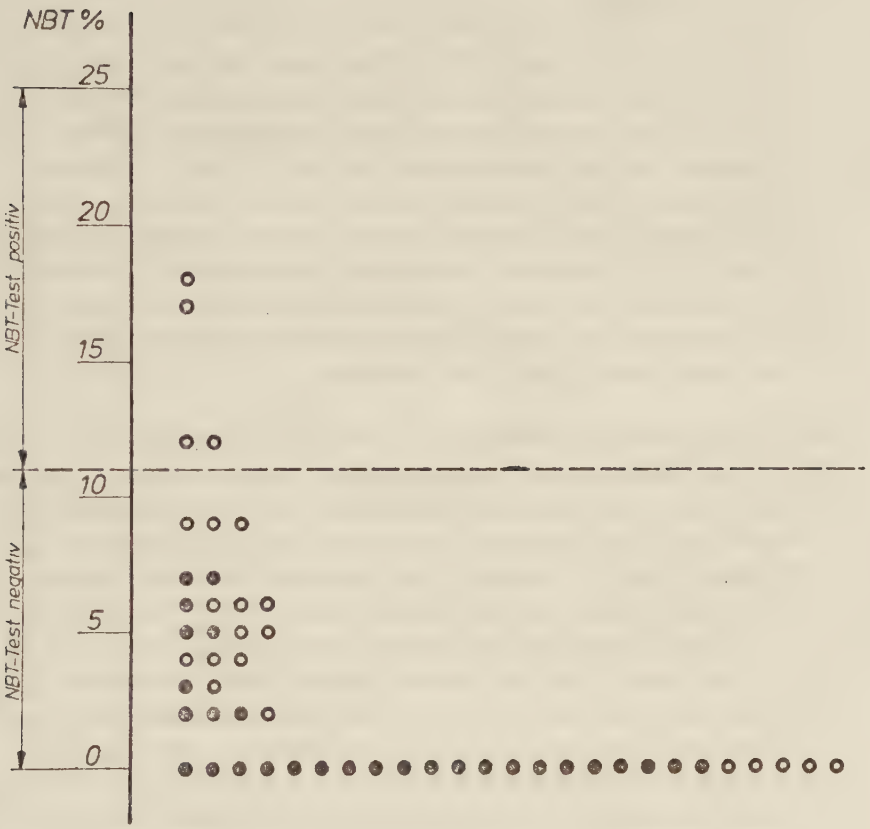
Tabelle 3 (Fortsetzung)

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
24	69	Bakt. Meningoencephalitis n. HNO-Op.	5	6560	1000		12	Liquor sehr blutig Enterobacter wurde angezüchtet
25		Zust. n. Hirnop.		2860	Pandy +	33	0	blutiger Liquor
26	50	Bakt. Meningitis n. Hirnop.		731	240		0	Pseudomonas aeroginosa wurde angezüchtet
27	7	Zust. n. Op. eines Spongioblastoms des Kleinhirns post. Op. Meningitis	3	21000	149	0	0	Liquor blutig
27a	"	"	4	2612	535	13	2	
28	10	Zust. n. Op. einer Angiomsblutung im Kleinhirn	2	2180	170	38	0	
29	29	Hirnabzeß	1	1210	136	46	7	

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
30		Subduralhämatom		3792	240	39	0	
31	15	Zust. n. Op. einer Arachnoidalzyste u. eines subduralen Hygroms	9	1200	46		9	Liquor stark blutig
32	6	Meningitis n. Op. eines Stammhirntumors	2	5760	130		6	Liquor blutig
32a	"	"	6	254	286	67	12	Liquor blutig
33		Bakt. Meningitis		9380	375		6	
34	31	Menititis n. Kopfschuß u. Op.	7	3760	200	18	0	
35	30	Meningitis n. frontobas. Fraktur u. Liquorrhoe	4	433	90	63	3	
35a	"	"	8	2164	86	52	0	
36	32	Meningitis n. Op. eines Nekrot.Tumors	6	1275	304	43	5	Liquor sehr blutig
37		Siebbeinzellca.		1800	48		9	Liquor sehr blutig

NBT-positive Granulozyten nach der PARK'schen Methode



● Verdacht auf bakterielle Meningitis

○ Verdacht auf bakterielle Meningitis bei Blutung in den Liquorraum

1 b) Diskussion

Diese Ergebnisse stehen im krassen Widerspruch zu den Resultaten der bisherigen Publikationen über den NBT-Test im Liquor bei Meningitis. Besonders auffallend war die Diskrepanz zu den Ergebnissen von Zwibel und Schwartzman (158), die ausnahmslos über positive Test bei Meningitiden berichteten. Wie aus den Diagnosen und Liquoruntersuchungswerten in der Tabelle 3 hervorgeht, wiesen auch die meisten von uns untersuchten Patienten eine Infektion des ZNS auf, wobei es sich in der Mehrzahl um Komplikationen nach neurochirurgischen Eingriffen handelte.

Im Laufe der Untersuchungsreihe wurde die Technik regelmäßig auf ihre Genauigkeit untersucht. Die Inkubationstemperatur wurde z. B. durch das Mitführen eines 2. Thermometers verfolgt. Die NBT-Lösung wurde bei jeder Untersuchung neu angesetzt und der Phosphat-Puffer durch PH-Messungen überprüft. Ein Fehler in der Methode konnte nicht entdeckt werden. Nachdem wir keinen Fehler in der technischen Ausführung für den negativen Ausfall unserer Tests verantwortlich machen konnten, zweifelten wir die Reproduzierbarkeit der bisherigen Untersuchungen über den NBT-Test im Liquor an. Besonders zweifelhaft erschien uns die Arbeit von Zwibel und Schwartzman(158), die uns als Modell für unsere Untersuchungsreihe diente.

Die Methode des NBT-Tests ist ursprünglich zur Anwendung auf die Granulozyten im Blut entwickelt worden. Der große Unterschied in den Milieus vom Blut und Liquor, legte es nahe, einen fehlenden Faktor im Liquor für die Funktionsunfähigkeit des NBT-Tests, wenn er unverändert vom Blut auf den Liquor übertragen wird, anzunehmen.

Durch ein intensives Studium der Literatur zum NBT-Test gelang es uns, den Aufnahmemechanismus des Nitroblau-Tetrazoliums in die Granulozyten und die Faktoren, die ihn beeinflussen, zu erarbeiten (siehe auch S.41-45 über den Mechanismus der NBT-Aufnahme in die Zelle und die intrazelluläre NBT-Reduktion).

Daraus geht eindeutig hervor, daß das NBT nur in einem makromulekularen Präzipitat, in einem unlöslichen Komplex mit Heparin oder Fibrinogen von den Granulozyten aufgenommen und damit zu Formazan reduziert werden kann (33, 92, 125, 128).

Wir zogen die Konsequenz aus dieser Beobachtung und führten in eine Änderung der bisherigen Methode, die Zugabe von Heparin zum NBT-Liquorgemisch in den Test ein. Damit waren wir die ersten, die die biochemische Basis der NBT-Reduktion, auch in der Anwendung des NBT-Tests im Liquor cerebrospinalis berücksichtigten. In keiner der bisher publizierten Arbeiten über den NBT-Test im Liquor wurde dieser Tatsache Rechnung getragen (38, 59, 152) (siehe auch S.31-33 über NBT-Tests im Liquor).

2. Versuche zur Entwicklung einer neuen Technik für den Liquor

2 a) Ergebnisse ohne und mit Heparinzusatz

Wir führten im folgenden eine Reihe von Tests durch mit zunächst einem Tropfen Heparinzugabe zum Working-NBT-Liquorgemisch. Der Rest der technischen Anordnung blieb unverändert. Unter dem Mikroskop stellte es sich heraus, daß ein Tropfen Heparin für unsere Zwecke offenbar zu hoch konzentriert war, da das ganze Zellbild von einem rötlich-blauen

Ergebnisse mit und ohne Heparinzusatz

Tabelle 4

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	ohne Heparin NBT pos. %	mit 70IU Heparin NBT pos. %
1	17	Bakt. Meningitis Pneumokokken im Liquor nachgewiesen	2	80000	580	0	10	27
2	81	Bakt. Meningitis Pneumokokken im Liquor nachgewiesen	1	38400	808	15	2	23
3	51	Bakt. Meningitis Pneumokokken nachgew.	2	9600	450	10	5	23
4	52	Meningitis nach Hirnop. Staphylokokkus pyogenes aus dem Liquor angez.	30	9360	308	93	7	40
5	19	Zust. n. Op. einer Arachnoidalzyste, Subdural-empyem. Enterobacter aerogenes aus dem Liquor angezüchtet	44	2280	335	10	12	39

Präzipitat so überlagert wurde, daß die Zellen einzeln nicht mehr zu erkennen waren. Es handelte sich dabei um das Makrokomplex Heparin-NBT.

In einer konsekutiven Herabsetzung der Heparinkonzentration pro Versuchsanordnung, gelang es uns eine Konzentration von 70 IU Heparin pro ml Liquor als optimal herauszuarbeiten. Auch bei dieser Heparinkonzentration ist mikroskopisch reichlich ausgefälltes Material zu sehen, doch sind die einzelnen Zellen deutlich erkennbar. Diese Heparinmenge mag zunächst etwas zu hoch erscheinen, wenn man bedenkt, daß für das Blut eine Konzentration von ca. 20 IU pro ml als bestmögliche Menge in der Literatur wiederholt angegeben wird. Man muß aber im Blut noch das Fibrinogen, das mit dem Heparin bei der NBT-Aufnahme in die Zelle synergistisch wirkt, dazurechnen. Nach Brueton et al (18), 1976, ist im Liquor kein Fibrinogen enthalten.

Oft sah man Granulozyten um solche Präzipitate herum aufgereiht, offenbar in der Absicht, diese zu phargozytieren. Dieses Phänomen ist auch schon von Segal und Levi (124), im Blut beschrieben worden. Bei der Auswahl der Patienten deren Liquores wir jetzt zur Untersuchung heranzogen, achteten wir besonders auf das Vorhandensein eindeutiger Kriterien einer bakteriellen Meningitis, um einen direkten Vergleich mit den bisherigen Publikationen über den NBT-Test im Liquor bei bakterieller Meningitis anstellen zu können. So waren alle in der Tabelle 4 aufgeführten Fälle bakteriologisch nachgewiesene bakterielle Meningitiden.

Wie aus der Tabelle 4 weiter erkennbar ist, waren mit 70 IE Heparin alle untersuchten Meningitisfälle eindeutig NBT-positiv im Liquor. Ohne Heparin war nur ein Fall mit 12 % Formazanzellen grenzwertig positiv.

Die aufgeführten Gegenüberstellungen machen deutlich, daß der NBT-Test im Liquor ohne Zusatz von Heparin nicht funktionsfähig ist. Nach dem bekannten Aufnahmemechanismus des Nitroblau-Tetrazoliums in die Granulozyten (S. 41-45) kann er auch nicht funktionieren, nach dem auch die zweite Substanz, mit der das NBT unter Entstehung eines Makrokomplexes ein phagozytierbares Präzipitat bilden kann, nämlich das Fibrinogen im Liquor cerebrospinalis nicht vorhanden ist. In einer umfangreichen Untersuchung haben Brueton, Breeze und Stuart (18), 1976, zeigen könne, daß der Liquor weder unter Normalbedingungen noch bei viraler oder bakterieller Meningitis faßbare Fibrinogenmengen enthält.

Wenn man sich diese biochemische Grundlage der NBT-Reduktion vor Augen führt, kann man sich auch die positiven NBT-Tests, die ohne Heparinzusatz entstanden sind,leicht erklären (Tabelle 3, Patient Nr. 14, 17b, 24, 32a). Alle diese Fälle waren Zustände nach neurochirurgischen Eingriffen am Gehirn mit Blutung in den Liquorraum. Der entnommene Liquor war stark mit Blut vermischt und enthielt damit auch Fibrinogen. Das phagozytierbare Fibrinogen-NBT-Komplex konnte entstehen und so das NBT von den Granulozyten aufgenommen werden. Wie aus den weiteren Liquoruntersuchungswerten zu entnehmen ist, waren in den genannten Fällen Meningitiden vorhanden. Aus dem Grunde fielen die NBT-Tests positiv aus.

In der Folgezeit nahmen wir alle NBT-Tests mit einem Zusatz von 70 IU Heparin pro ml Liquor vor.

2 b) Ergebnisse mit verschiedenen NBT-Konzentrationen

Nachdem einige Untersucher (76, 77, 78, 123, 124) den günstigen Einfluß einer Herabsetzung der NBT-Konzentration von 0,2 % auf 0,1 % in der NBT-Lösung angeregt hatten, nahmen wir eine Versuchsreihe vor, um die Ergebnisse die bei beiden Konzentrationen entstehen miteinander vergleichen zu können. Wie aus der Tabelle 5 zu entnehmen ist, antworten die Granulozyten bei einer Konzentration von 0,1 % NBT in der Lösung mit vermehrter intrazellulärer Formazanbildung im Vergleich zu der 0,2prozentig konzentrierten Lösung. Die Ursache dafür ist, daß das NBT bei zunehmender Konzentration die Neigung hat, aus der Lösung herauszukristallisieren. Nach Segal und Levi (124), ist die Aufnahme des NBT in kristalliner Form durch die Neutrophilen nicht signifikant, so daß auch keine nennenswerte NBT-Reduktion erfolgen kann.

2 c) Ergebnisse mit der Zytozentrifuge und der Sedimentationskammer

In einer weiteren Versuchsreihe untersuchten wir die Auswirkung der Zytozentrifuge auf den NBT-Test im Liquor. Gordon et al (74), 1975, unternahmen eine ausgedehnte Untersuchung von 443 Patienten um die Auswirkung der Zytozentrifuge auf die Ergebnisse des NBT-Tests im Blut zu bestimmen. Sie berichteten von durchgehend günstigen Resultaten. Besonders hoben sie die herabgesetzte Neigung der Neutrophilen hervor sich zu verklumpen. Gleichfalls soll die Häufigkeit der Zerstörung der durch die Aufnahme und Reduktions des NBTs ohnehin zerbrechlich gewordenen Granulozyten abgenommen haben. Wie aus der Tabelle 6 hervorgeht, können wir diese Ergebnisse beim NBT-Test im Liquor nicht bestätigen. Generell waren die durch die Zytozentrifuge angefertigten Präparate mikroskopisch erheblich schwieriger auszuwer-

Ergebnisse mit verschiedenen NBT-Konzentrationen

Tabelle 5

Patient Nr.	NBT 0,1 %	NBT 0,2 %
1	16	22
2	12	3
3	21	15
4	26	18
5	7	6
6	32	19

Vergleich der Zytozentrifuge mit der Sedimentationskammer

Tabelle 6

Patient Nr.	NBT pos. % mit Sedimentationskammer	NBT pos. % mit Zytozentrifuge
1	3	Zellen zerstört, nicht auswertbar
2	28	nicht auswertbar
3	2	4
4	11	11
5	12	Zellen zerstört
5a	24	15 schwer erkennbar
6	39	42
7	32	18 schwer erkennbar
8	32	Zellen zerstört
8a	54	43 schwer erkennbar
8b	22	17
9	36	25
10	7	6
11	17	22
11a	15	Zellen zerstört

ten als die durch die Sedimentiermethode nach dem Sayk'schen Prinzip. In vielen Fällen waren sogar fast alle Granulozyten zerstört, so daß das Präparat nicht auszuwerten war. Waren die Zellen erhalten geblieben, so konnten sie nur schwer voneinander differenziert werden. Wie weiter aus der Tabelle 6 zu ersehen ist, lagen die prozentualen NBT-Werte mit der Diffusionsmethode fast in allen Fällen deutlich höher als die Werte mit der Zytozentrifuge. Das ist auch leicht erklärlich, denn die Liquorzellen reagieren gegenüber mechanische, thermischen und chemischen Einflüssen außerordentlich empfindlich. Das Liquormilieu gilt wegen seines geringen Eiweißgehaltes als ausgesprochen zellfeindlich. Die bis zum Lumbalsack gelangten Zellen haben bis dahin ein Vita minima durchgemacht, sie sind aufgrund des geringen äußeren onkotischen Druckes aufgequollen und morphologisch den der Hämatologie bekannten Zellformen nur noch ähnlich (Kölmel). Bekanntlich hat schon das NBT einen toxischen Effekt auf die Neutrophilen (127). Möglicherweise werden sie durch zusätzliche mechanische Beanspruchung in der Zytozentrifuge ganz zerstört. Ein weiterer Nachteil der Zytozentrifuge im NBT-Test ist die Konzentration der Zellen. Gleichzeitig werden die, die Auswertung ohnehin erschwerenden NBT-Heparin-Präzipitate, noch mehr zusammengedrängt und können unter Umständen ein Großteil des Zellbildes bedecken. Aus diesen Gründen fertigten wir auch weiterhin unsere zytologischen Präparate in der modifizierten Sedimentationskammer nach dem Sayk'schen Prinzip an.

3. Die von uns für den Liquor modifizierte Methode

38 zytologische Präparate von 26 Patienten fertigten wir an, um den diagnostischen Wert des NBT-Tests in der von uns vorgenommenen methodischen Modifikation zu überprüfen. Dies wurde nötig, nachdem wir zeigen konnten, daß der NBT-Test mit der Park'schen Methode (106), die in der Hämatologie entwickelt worden war, im Liquor nicht verwertbar ist. Wie oben beschrieben, bestand die Modifikation in der Zugabe von 70 IU pro ml Liquor und Herabsetzung der NBT-Konzentration von 0,2 % auf 0,1 % in der Lösung, sonst blieb der Arbeitsgang unverändert. Gleich blieben auch die Kriterien nach denen von uns die Patienten für die Liuqoruntersuchung ausgewählt worden waren. Demnach waren es Patienten mit einer Liquorpleozytose von über 150 Zellen/$_3$ und klinischen Zeichen einer Entzündung im ZNS. Es ging uns vornehmlich darum, den diagnostischen Wert des NBT-Tests bei der bakteriellen Meningitis, sowie nach Hirnoperationen, bei der Differenzierung einer bakteriell bedingten von einer aseptischen Pleozytose zu überprüfen.

3 a) Ergebnisse

In der Tabelle 7 sind die Fälle aufgeführt, bei denen entweder bakteriologisch der Beweis einer bakteriellen Meningitis erbracht werden konnte oder nach der Klinik und herkömmlichen Liquorparametern, wie Zellzahl, Differentialzellbild, Eiweiß- und Glucosewerten, mit höchster Wahrscheinlichkeit eine bakterielle Meningitis anzunehmen war. Dabei konnten in 13 Fällen, wie aus der Tabelle 7 ersichtlich, Bakterien aus dem Liquor, entweder kulturell oder mikroskopisch nachgewiesen werden. In 5 Fällen konnte keine bakteriologische Bestätigung erbracht werden.

Ergebnisse mit der modifizierten Methode

Tabelle 7

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
1	14	Meningitis n. Op., spontaner Liquorfistel	24	48	112	21	28	Ecoli aus dem Liquor angezüchtet
2	70	Bakt. Meningitis	1	100000	1000	10	42	Pneumokokken im Liquor nachgewiesen
3	32	Eitirige Meninigitis n. Op. eines Subdural-hämatoms	12	6400	434	10	16	Enterobacter a. d. Liquor angezüchtet
3a	"	"	19	1880	740	32	25	"
4	8	Bakterielle Meningitis, Subduralempyem	1	28160	1500	0	27	
5	71	Meningitis n. Op. einer Glioblastoma multiforme	7	10240	204	18	32	deutl. Meningismus sept. Temp.
6	64	Inokulationsmeningitis n. LP	6	195	Pandy +++	55	21	Enterobacter a. d. Liquor angezüchtet
7	41	Rhinogener Hirnabzeß n. frontobas. Fraktur	15	38400	760	25	3	Enterobacter aerog. a. d. Liquor angz.

Tabelle 7 (Fortsetzung)

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
8		Bakterielle Meningitis	9	549	57	26	26	
9	17	Bakterielle Meningitis	2	80000	580	0	27	Pneumokokken aus dem Liquor nachgew.
9a	"	"	8	538	192	57	42	
10	35	Meningitis n. Op. eines epiduralen Hämatoms	12	216	340	87	17	Enterobacter aerog. a. d. Liquor nachgew.
11	29	Meningitis n. Op. eines intrazerebralen Hämatoms	4	575	460	83	17	Hämolysierende Streptokokken aus dem Liquor nachgewiesen
11 a	"	"	48	688	102	73	32	
12	64	Eitrige Meningitis n. Kopfdurchschuß	4	20480	460	29	4	trüber Liquor

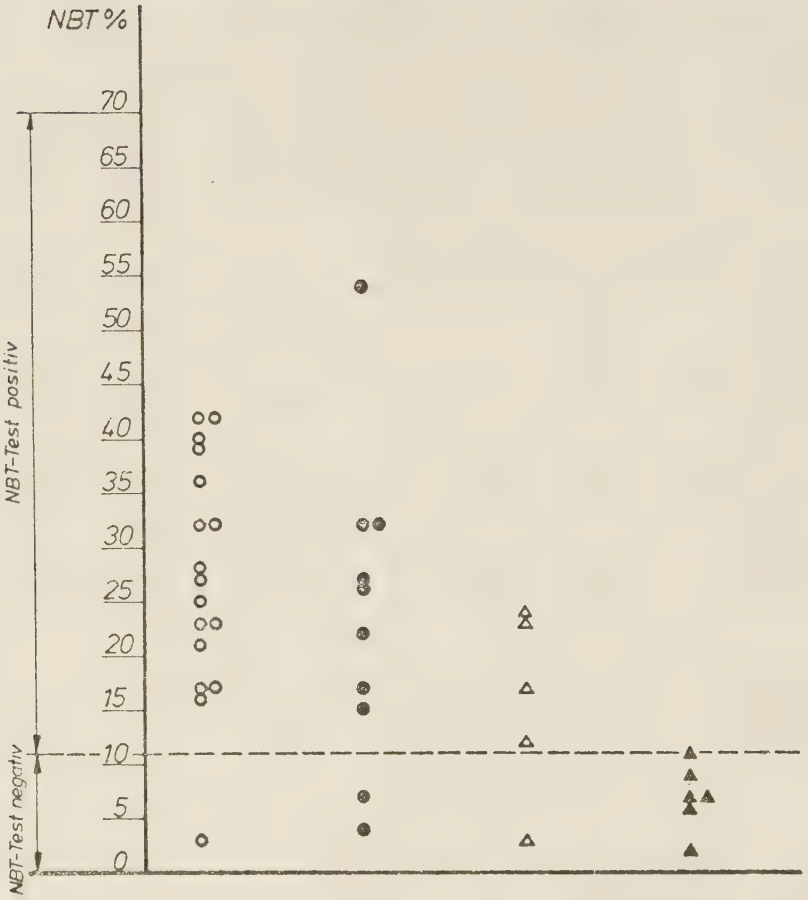
Tabelle 7 (Fortsetzung)

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
13	49	Meningitis n. Op. eines Astrozytoms	5	1040	240	22	32	trüber Liquor
13a	"	"	7	3820	240	32	54	"
13b	"	"	12	1024	98	49	22	"
14	45	Meningitis n. Op. eines Olfactoriusmeningeoms	14	10480	230	15	36	Hämolysierende Streptokokken aus dem Liquor nachgewiesen
15	81	Bakterielle Meningoenzephlitis	1	38400	808	15	23	Pneumokokken aus dem Liquor nachgewiesen
16	51	Bakterielle Meningitis	2	9600	450	10	23	Pneumokokken aus dem Liquor nachgewiesen
17	52	Meningitis n. Hirnop.	30	9360	308	93	40	Staphylokokkus pyogenes aus dem Liquor angezüchtet

Tabelle 7 (Fortsetzung)

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag. d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
18	19	Subdurales Empyem u. Meningitis n. Op. einer Arachnoidalzyste	1	3720	240	48	7	
18a	"	"	9	100000	254	0	15	Eitriger Liquor
18b	"	"	10	100000	330	0	17	"
18c	"	"	44	2280	335	10	39	Enterobacter aerogenes aus dem Liquor nachgewiesen
18d	"	"	51	2680	350	30	32	

NBT-positive Granulozyten im Verhältnis zu den Gesamtgranulozyten nach der modifizierten Methode.



○ Meningitis purulenta, Erreger nachgewiesen

● Klinisch eindeutige Hinweise auf eine bakterielle Meningitis, Erreger jedoch nicht nachgewiesen

△ Klinischer Verdacht auf bakterielle Meningitis, kein Erreger nachgewiesen, jedoch Blut im Liquorraum

▲ Klinischer Verdacht auf bakterielle Meningitis nicht bestätigt

Aus technischen Gründen konnten wir aber keine anaerobe Bakterienkulturen anlegen. Es könnten so einige Meningitiden von Anaerobiern verursacht worden sein, die wir nicht nachweisen konnten. Andererseits gehen die Bakterien im Liquor relativ schnell zugrunde und ihre Anzüchtung ist deshalb immer etwas problematisch.

Bei 5 Patienten trat die Meningitis ohne einen neurochirurgischen Eingriff auf (Patient Nr. 2, 4, 8, 9, 15 Tabelle 7). Sie waren in der Mehrzahl auf der Infektionsstation der inneren Abteilung in Behandlung. Bei den restlichen Patienten muß die Meningitis als eine postoperative Komplikation nach Hirnoperation angesehen werden. Sie waren Patienten der Neurochirurgie der gleichen Klinik.

Wie aus der Tabelle 7 ersichtlich, fallen von 26 NBT-Tests bei Meningitis 24 eindeutig positiv aus. Die Werte liegen dabei zwischen 15 % und 54 % Formazanzellen. Zwei Tests müssen mit 3 % und 4 % als NBT-negativ angesehen werden.

3 b) Diskussion

Der Test bei Nr. 18, Tabelle 7, fällt mit 7 % ebenfalls negativ aus. Hierbei handelt es sich um einen Patienten, der erst 8 Tage nach dieser Bestimmung eine Meningitis entwickelt hat und dann auch eindeutig positive NBT-Tests zeigte (Nr. 18 a, 18 b, 18 c, 18 d). Er wurde hier aufgeführt, um die Nützlichkeit des Tests zu unterstreichen, wenn er bei infektgefährdeten Patienten wiederholt angewandt wird. Dadurch kann eine Meningitis frühzeitig diagnostiziert werden.

Die beiden anderen negativen NBT-Tests sind bei den Fällen Nr. 7 und Nr. 12 zu registrieren. Bei der Suche nach

einer Ursache für diese falsch-negativen Werte, fällt uns zunächst die übereinstimmende Schwere beider Krankheitsbilder auf. Es handelt sich bei beiden um einen septischen Zustand. In der Hämatologie wurden falsch-negative NBT-Tests bei Septicämien wiederholt beschrieben (13, 69, 137, 140). Dies wird mit einem Zusammenbruch der zellulären Infektabwehr erklärt. Andererseits kann angeblich eine massive Antibiotikatherapie ein solches Phänomen bewirken (54, 17, 120). Bei beiden Patienten mit den negativen NBT-Tests erfolgte auch eine intrathekale Antibiotikainstillation. Eine Reihe anderer Faktoren können auch falsch-negative Resultate in den NBT-Tests hervorrufen (s. Tabelle 2).

Alle weiteren Tests zeigen mit unserer Methode positive Werte bei Meningitis. Eine eindeutige Korrelation zwischen dem prozentualen Anteil der NBT-positiven Zellen und der Schwere des Krankheitsbildes oder mit anderen Liquorlaborwerten ließ sich nicht feststellen.

Es fällt auf, daß die NBT-Werte eine relativ lange Zeit positiv bleiben (z. B. Fall Nr. 11 und 18). Natürlich könnte es sich dabei um eine chronische Infektion handeln. Dieser Zusammenhang erforderte noch eine nähere Untersuchung.

Weiterhin ist auffällig, daß der Anteil der NBT-positiven Granulozyten in den meisten Fällen mit der Besserung des Krankheitsbildes, die sich auch in den Liquorwerten niederschlägt, eher etwas ansteigt, um dann wieder abzufallen (z. B. Fall Nr. 3, 9, 11, 13, 18). Auch diesen Umstand müßte man noch näher untersuchen, doch hängt er wahrscheinlich mit der Leistungsfähigkeit der zellulären Infektabwehr im Verlaufe der Erkrankung zusammen und ist in Verbindung mit den obigen Ausführungen über die beiden falsch-negativen Ergebnisse zu sehen.

Tabelle 8

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
1	61	Aneurysma d. A. cerebri comm. Subarachnoidalblutung	4	1820	58	37	23	Liquor blutig
2	32	Zust. n. Op. eines Ponstumors		201	184	35	17	Liquor blutig
2a	"	"	+3	1920	150	—	6	
3	67	Subdurales Hämatom, contusio cerebri	5	220	266	107	12	Liquor blutig
3a	"	"	7	1860	120	80	24	Liquor blutig
4	39	Zust. nach Op. eines Meningeoms, Ampicillinallergie	5	5600	200	21	3	Liquor blutig

Tabelle 8 (Fortsetzung)

Pat. Nr.	Alter	Diagnose	Tag. d. Erkrankg. o. post. Op.	Zell-Zahl/3	Eiweiß mg %	Glucose mg %	NBT pos. %	Bemerkungen
5	14	Zust. n. Op. eines Astrozytoms	4	286	220	44	2	
6	42	Zust. n. Op. eines Astrozytoms	10	1289	235		7	
6a	"	"	11	660	88	55	11	
7	6	Zust. n. Op. eines Spongioblastoms d. hinteren Schädelgrube	18	740	113	63	9	
8	15	Zust. Op. einer Arachnoidalzyste	3	142	140	30	7	

Nach diesen Werten ist der NBT-Test, nach unserer Methode ausgeführt, eine wertvolle Hilfe bei der Diagnose einer bakteriellen Meningitis.

In der Tabelle 8 sind die Patienten aufgeführt, bei denen von Anfang an, sowohl klinisch als auch nach den herkömmlichen Liquorwerten, wie Zellzahl, Differentialzellbild und Glucose nur ein geringer Verdacht auf Bestehen einer bakteriellen Meningitis vorhanden war. Mit dem NBT-Test sollte dieser Verdacht verringert oder verstärkt werden. Es konnte in keinem der Fälle ein Erreger nachgewiesen werden. Wie eingangs erwähnt, war der Verdacht auf eine Meningitis schon ein Kriterium nach dem wir unsere Patienten ausgewählt haben.

Wie aus der Tabelle 8 ersichtlich, fielen 5 von 8 dieser Fälle im NBT-Test negativ aus. Die Werte lagen bei ihnen zwischen 2 und 11 % Formazanzellen (Patient Nr. 4, 5, 6, 7, 8,). Diese Patienten hatten, auch nach dem NBT-Test, mit hoher Sicherheit keine bakterielle Meningitis. Wahrscheinlich handelte es sich bei ihnen um eine nach Hirnoperationen sehr häufige chemische Meningitis. Der NBT-Test kann demnach ein wertvolles diagnostisches Hilfsmittel sein, wenn es darum geht, solche aseptischen Fälle von bakteriellen Meningitiden, die ja auch häufige postoperative Komplikationen nach Hirneingriffen darstellen, zu differenzieren. Wie wir in der Tabelle 7 sahen, fällt der NBT-Test in über 90 % aller bewiesenen Meningitiden positiv aus.

3 Patienten aus der Tabelle 8 zeigen positive NBT-Tests mit Werten zwischen 12 % und 24 % Formazanzellen (Nr. 1, 2 und 3). Fall Nr. 2 zeigte 3 Tage nach einem positiven Test mit 17 %, wieder einen negativen mit 6 % NBT-positiven Granulozyten. Bei allen drei dieser Patienten wird durch den NBT-Test der Verdacht auf eine bakterielle Menin-

gitis erhärtet. Andererseits müssen natürlich auch falsch-positive Testergebnisse in Betracht gezogen werden. Solche Werte kommen in der Hämatologie häufig vor (s. Tabelle 1, S.). Bei allen drei Patienten mit positiven NBT-Tests aus der Tabelle 8 fällt auf, daß es zu einer Blutung in den Liquorraum gekommen war. Der entnommene Liquor war stark blutig. In solchen Fällen muß man daran denken, daß im NBT-Test jetzt nicht nur Liquorzellen sondern auch Blutgranulozyten mitreagieren. Ist im Organismus gleichzeitig woanders als im ZNS ein bakterieller Infekt vorhanden, so kann der positive NBT-Test ein Ausdruck dieser Infektion sein. Er stammt dann nicht von den Liquorzellen sondern vielmehr von den Blutgranulozyten her. Auch dieser Umstand müßte noch näher untersucht werden und erforderte gleichzeitige NBT-Tests im Blut. Patient Nr. 4, Tabelle 8, zeigt trotz Blutes im Liquor einen negativen NBT-Test und deutet daraufhin, daß der blutige Liquor nicht zwangsläufig NBT-positiv reagieren muß.

Die Liquorzellen reagieren bekanntlich äußeren Einflüssen gegenüber sehr empfindlich. Der NBT-Test stellt eine zusätzliche mechanische, thermische und chemische Beanspruchung der Zellen dar. Er muß deshalb innerhalb von 2 Stunden nach Entnahme des Liquors vorsichtig und genau ausgeführt werden. Die Auswertung kann gelegentlich, wegen der morphologischen Alteration der Zellen einen zytologisch geübten Untersucher erfordern.

Trotz dieser Schwierigkeiten können wir den NBT-Test im Liquor, wenn er nach unserer modifizierten Methode ausgeführt wird, als ein einfaches, schnelles, preiswertes und aussagekräftiges diagnostisches Hilfsmittel bei der Differenzierung bakterieller Meningitiden von aseptischen Liquorpleozytosen bezeichnen.

IX. Zusammenfassung

In der Absicht, den Wert des NBT-Tests in der granulozytären Pleozytose des Liquor cerebrospinalis zu bestimmen, führten wir ihn in seiner quantitativen zytologischen Form durch. In einem Zeitraum von über 2 Jahren fertigten wir aus Liquorpunktaten von 65 Patienten 150 zytologische Präparate an und werteten sie mikroskopisch aus.

Zunächst führten wir den Test nach der von Park (106) angegebenen und von allen bisher bekannten Untersuchern des NBT-Tests im Liquor angewandten Methode bei 37 Patienten 51 mal durch. Nur in vier Fällen fiel er mit dieser Technik positiv aus. In 23 Fällen waren überhaupt keine NBT-positiven Zellen zu beobachten. 24 Tests waren mit Werten zwischen 2 % und 9 % Formazanzellen negativ.

Nachdem wir keinen Fehler in der technischen Durchführung des Tests entdecken konnten, zweifelten wir die Reproduzierbarkeit der veröffentlichten Ergebnisse mit dem NBT-Test im Liquor an.

Durch das Studium von über 160 Publikationen über den NBT-Test, gelang es uns den Aufnahmemechanismus des Nitroblau-Tetrazoliums in die Granulozyten zu erarbeiten. Daraus geht eindeutig hervor, daß das NBT nur in einem makromolekularen Präzipitat, in einem unlöslichen Komplex mit Heparin oder Fibrinogen von den Granulozyten aufgenommen und damit zu Formazan reduziert werden kann. In einer umfangreichen Untersuchung haben Brueton et al (18), 1976, zeigen können, daß der Liquor weder unter Normalbedingungen noch bei viraler oder bakterieller Meningitis faßbare Fibrinogenmengen enthält.

Die für das Blut entwickelte Park'sche Methode kann im Liquor nicht funktionieren, weil in diesem weder Heparin noch Fibrinogen enthalten und damit die Grundlage für die NBT-Aufnahme in die Zelle nicht gegeben ist. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen, waren auch unsere negativen Ergebnisse mit dieser Methode erklärlich.

Wir zogen die Konsequenz aus dieser Beobachtung und führten in einer Änderung der bisherigen Methode, die Zugabe von Heparin zum NBT-Liquorgemisch in den Test ein. Damit waren wir die ersten, die die biochemische Basis der NBT-Reduktion auch in der Anwendung des NBT-Tests im Liquor cerebrospinalis berücksichtigten.

Wir führten im folgenden eine Reihe von Tests mit verschiedenen Heparin- und NBT-Konzentrationen sowie mit der Zytozentrifuge durch, um eine neue NBT-Technik für den Liquor zu entwickeln. Nach dieser neuen Methode nahmen wir bei 26 Patienten 38 NBT-Tests vor. Von 26 Tests bei bewiesenen bakteriellen Meningitiden fielen 24 mit Werten zwischen 15 % und 54 % Formazanzellen eindeutig positiv aus. 2 waren mit 3 % und 4 % positiven Granulozyten NBT-negativ. Von 8 Fällen, bei denen kein bakteriologischer Beweis einer Meningitis erbracht werden konnte, und auch klinisch und nach den herkömmlichen Liquoruntersuchungswerten nur ein geringer Meningitisverdacht bestand, fielen 5 mit Werten zwischen 2 % und 11 % Formazanzellen NBT-negativ aus. Der Meningitisverdacht wurde bei diesen Patienten hierdurch verringert. 3 Fälle waren mit Werten zwischen 12 % und 24 % positiven Granulozyten NBT-positiv. Bei diesen wurde der Meningitisverdacht erhärtet, doch muß die Reaktion des blutigen Liquors im NBT-Test mitbewertet werden.

Bei Berücksichtigung der Empfindlichkeit der Liquorzellen äußeren Einflüssen gegenüber, kann der NBT-Test, wenn er nach unserer modifizierten Methode im Liquor ausgeführt wird, als ein wertvolles diagnostisches Hilfsmittel bei der Differenzierung bakterieller Meningitiden von aseptischen Pleozytosen bezeichnet werden.

Literatur

(1) Abello, V. B.: Has the Nitroblue Tetrazolium Test Proved itself? Pediatrics 49; 311, 72

(2) Andersen, B. R.: NBT-Test in Malaria. The Lancet 2; 317, 71

(3) Anner, R. M., Nydegger U. F., Miescher, P. A.: Der NBT-Test in der Diagnose entzündlicher Zustände. Therapeutische Umschau 29; 601 - 605, 1971, Heft 9

(4) Arrowsmith, D., Morin, R.: Oral Contraceptives and the NBT-Test. The Lancet, Jan. 20; 148 - 149, 73

(5) Asburn, Cooper, Mc Call, De Chatelet: NBT.Reduction: False Positive and False Negative Results. Blood, Vol 41; 921 - 925, 73

(6) Baehner, R., Nathan, D. G.: Leukocyte Oxidase: Defective Activity in Chronic Granulomatous Disease . Science, Vol 155; 835, 67

(7) Baehner, R. L. Nathan, D. G.: Quantitative NBT Test in CGD. The New England Journal of Medicine 278; 971 - 980, 68

(8) Baehner, R.: Subcellular distribution of NBT reductase (NBT-R) in human polymorphnuclear leucocytes. J. Lab. Clin. Med.; 785 - 792, Nov. 75

(9) Baehner, R. L., Boxer, A. L., Davis, J.: The Biochemical Basis of NBT Reduction in Normal Human and Chronic Granulomatous Disease Polymorphnuclear Leukocytes. Blood, Vol 48, No 2; 309 - 313, 76

(10) Barker, B., Farmes, P.: NBT-Test a micromethod (abstract). Clin. Res. 20; 524, 72

(11) Belcher, R. W., Czarnetzki, B.: A Simple Screening Test for Chronic Granulomatous Disease. Am. J. Clin. Path. (A. J. C. P.) Vol. 60; 450 - 452, 73

(12) Bertoto, A., Vaccaro, R., Forenza, N., Gandini: Effect of x-Ray Exposure on NBT-Test. The Lancet, April 26, 988, 73

(13) Bittner, S. J., Kieff, E., Windhorst, D., Meier, P.: The Use of the Unstimulated NBT Test as a Routine Screening Test for Bacterial Infection in an Adult Population. A. J. C. P., Vol. 60; 843 - 853, 73

(14) Björksten, B.: The NBT Test Using Venous and Capillary Blood. Scand. J. Haemat, Vol. 11; 270 - 274, 73

(15) Björksten, B., Soheim, F.: Oral Contraceptives and the NBT Test. The Lancet, April 14; 830 - 831, 73

(16) Björksten, B.: The Influence of Technical Factors on the NBT Test. Scand. J. Haemat, Vol. 12; 46 - 50, 74

(17) Boxer, L. A., Stossel, T. S.: Effect of Anti-Human Neutrophil Antibodies in Vitro. The Journal of Clinical Investigation Vol. 53; 1534 - 1545, 74

(18) Brueton, M. J., Breese, G. R., Stuart, J.: Fibrin-Fibrinogen degradation products in cerebrospinal fluid. J. Clin. Path.; 341 - 344, 76

(19) Budny, J., Grotke, N. C., Mac Gillivray: NBT dye reduction. New York State Journal of Medicine; 877 - 881, 76

(20) Cagan, R. M., Karnowsky, M. L.: Enzymatic Basis of the Respiratory Stimulation Durin Phagocytosis. Nature, Vol. 204; 255 - 257, 64

(21) Cassimose, Sklavunu-Zurukzoglus, Catrin, D., Nanas, C.: Response of Blood and Bone Marrow Neutrophils to the NBT Test in Children. Acta haemat 56; 73 - 77. 76

(22) Catovsky, B., Galton, A.: Lysozyme activity and NBT reduction in leukaemic cells. J. Clin. Path., 26; 60 - 69, 73

(23) Charette, R., Komp, D.: NBT-Test and Incubation Temperature. New Engl. J. of Med., Vol. 287, Nr. 19; 991 - 992, 72

(24) Chitale, M. S., Chitale, S. V., Phadke, M. A., Phadke, M. V., Sainani, G. S.: NBT Test in Tuberculous and Pyogenic Meningitis. Indian Pediatrics, 13 (6); 448 - 450, 76

(25) Chretien, J. H., Garagusi, V. F.: N.B.T.-Test in parasitic disease. The Lancet 2; 549, 71

(26) Chretien, J. H., Garaguse, V. F.: N.B.T.-Test and Steroid Therapie. The Lancet, Sept. 23; 653 - 654, 72

(27) Cocchi, P.,Mori, S., Becattini, A.: N.B.T.-Tests in Premature Infants. The Lancet, Dec. 27; 1426 - 1427, 69

(28) Cocchi, P. Mori, S., Becattini, A.: N.B.T.-Tests in Premature Infants. The Lancet, 2; 1426, 69

(29) Cocchi, P. Mori, S., Becattini, A.: NBT Reduction By Neutrophils of Newborn infants in vitro phagocytosis Test. Acta Paediat. Scand., 60; 475 - 478, 71

(30) Cooper, M. R., De Chatellet, Mc Call, Spurr,:The Activated Phagocyte of Polycythemia Vera . Blood, Vol. 40, No 3; (September), 73

(31) Curreri, W. P., Heck, E. L., Browne, L., Baxter, C. R.: Stimulated NBT Test to assess neutrophil antibacterial function: Prediction of wound sepsis in burned patients. Surgery, July, 73, Vol. 74, No 1; pp 6 - 13

(32) Czarnetzki, Fountain, Belcher, Cleveland,: The NBT in Dermatologie Patients. Arch Dermatolog. Vol. 109; 36 - 39, 74

(33) Czarnetzki, B. M., Cowan, D. H., Belcher, R.: The Effects of Polyanious on NBT Reduction Hexose Monophosphate Shunt Activity and Ultrastructure of Polymorphnuclar Leukocytes. Am. J. Clin. Path., Vol. 64; 34 - 40, 75

(34) Dernin, A. A.: N.B.T. Test and S.L.E. The Lancet, July 19; 129, 75

(35) Douwes, F. R.: Clinical value of NBT Test. The New Engl. J. of Med., Oct. 19; 822, 72

(36) Drath, D. B., Karnovsky, M. L.: Superoxide Production By Phagocytic Leucocytes. The Journal of Experimental Medicine, Vol. 141; 257 - 262, 75

(37) Drysdale, M. C.: NBT-Test in Appendicitis. The Lancet 2; 594, 72

(38) Elgefors, B., Olling, S.: N.B.T. Test in Viral Meningitis. The Lancet, Apr. 29; 967, 72

(39) Esposito, R. De Lalla, F.: N.B.T. Test in Bacterial Meningitis. The Lancet 1; 747, 72

(40) Evans, T. J., Morrice, Mc Crae, W., Junes, E. M.: NBT Test in Cystic Fibrosis. The Lancet, May 18; 992, 74

(41) Farnes, P., Povar, L. M., Fieschko, J., Barker, B. E.: N.B.T. Tests in Dog Neutrophils. The Lancet 1; 47, 72

(42) Feigin, R. D.: NBT Test in the diagnosis of febrile patients. The New Engl. J. of Med., Vol. 285, No 6; 347 - 348, 71

(43) Feigin, R. D., Shackelford, P. G., Choi, S. C.: Prospective use of the NBT dye Test in febrile disorders. The Journal of Pediatrics 79; 943 . 947, 71

(44) Feigin, R. D., Shackelford, P. G., Choi, S. C., Flake, Franklin, Eisenberg: NBT dye test as an aid in the defferential diagnosis of febrile disorders. The Journal of Pediatrics, Vol. 78; 230 - 237, 71

(45) Feigin, R. D., Pickering, L. K.: NBT Test and Infection. The New Engl. J. of Med., May 16; 1143 - 1145, 74

(46) Fikrig, Sumner, Berkovich, Steven, Emmet, Gordon: NBT dye test and differential diagnosis of meningitis. The J. of Pediatrics, 82; 855 - 857, 73

(47) Freeman, R. King, B.: Infective Complications of indwelling intravenous catheters and the Monitorin of infections by the NBT test. The Lancet; 992, 72

(48) Freeman, R., King, B.: NBT-Test in acute Appendicitis. The Lancet 2; 1198, 72

(49) Freeman, R., King, B.: Technique für the performance of the NBT-Test. Journ. Clin. Path. 25; 912, 72

(50) Freeman, R.,King, B.: A Modification to the N.B.T.-Test. The Lancet 2; 1154, 71

(51) Freeman, R., King, B.: N.B.T. Test. The Lancet, Aug. 19; 380, 72

(52) Freeman, R., King, B.: NBT Test and Neutropenia. The Lancet 1; 533 - 534 72 a

(53) Freeman, R., King, B.: N.B.T. test and Mycoplasma. The Lancet 1; 962, 72 b

(54) Freeman, R., King, B., Kite,: Serial NBT tests in the management of infection. J. Clin. Path., 26; 57 - 59, 73

(55) Freeman, R., King, B.: NBT Tests. The Lancet, Jan. 11; 104 - 106, 75

(56) Gifford, R. H., Malawista, S. E.: A simple rapid micromethod for detecting chronic granulomatous disease of childhood. J. Lab. Clin. Med., Vol. 75, No 3; 511 - 519, 70

(57) Gifford, R. H., Malawista, S. E.: Dynamics of the NBT Reaction in Granulocytes, with a Simple Micromethod for Detecting Chronic Granulomatous Diseases. Journ. of Clin. Invest., 48, 28 a (Abst.); 69

(58) Gödl, J.: Der Nitroblau-Tetrazolium-Test in der Diagnostik der Meningitis purulenta. Infection 4. 212 - 214, 76

(59) Goihman-Yahr, M., Couvint,J., Rodriguez-Ochoa, G.: N.B.T. Test in Lepromatous Leprosy. The Lancet, August 25; 456 - 457, 73

(60) Goihman-Yahr, M., Rodriguez-Ochoa, G., Aranzazu, N., Couvint, J.: Polymorphnuclear Activation in Leprosy. Spontaneous and Endotoxin-Stimulated Reduction of NBT: Effects of Serum and Plasma on Endotoxin-induced Activation. Clin. exp. Immunol. 20; 257 - 264, 75

(61) Gordon, A. M., Rowan, R. M., Brown, T., Carson, H. G.: Rountine application of the NBT-Test in the clinical laboratory. J. Clin. Pathol. 26; 52 - 56, 73

(62) Gordon, A. M., Rowan, R. M.: The N.B.T.-Test. The Lancet, Nov. 10; 1085, 73

(63) Gordon, A. M., Briggs, J. D., Bell, P. R. F.: The NBT test in renal transplantation. J. Clin. Path. 27; 734 - 737, 74

(64) Gordon, P. A., Stuart, J., Lee, T. R., Breeze,G. R. Pugh, R. N. H.: The cytrocentrifuge NBT test. J. Clin. Path., 28; 674 - 679, 75

(65) Greig, H. B. W., Path, F. R. C. F. C. P. (S. A.): NBT and Leukozyte Alkaline Phosphatase Tests in Infection. The New Engl. J. of Med., Oct. 17; 851, 74

(66) Grush, O. C., Mauer, A. M.; Neutrophil Function and N.B.T Dye Reduction. The Lancet, 2; 383, 69

(67) Hallett, J. W.. Wilson, J. W.: NBT Reduction by Neutrophils in Experimental Hemorrhagic Shock. Am. J. Path., Vol. 73, No 1; 173 - 179, 73

(68) Hartwich, G., Eibl, D.: NBT-Test bei Lymphogranulomatose. Med. Klin. 72,(Nr. 39); 1586 - 1589, 77

(69) Hawkins, J.: The NBT-Test in systemic bacterial Infection. The Lancet 1; 1065 - 1066, 73

(70) Hellum, K. B., Solberg,K.: Influence of Anticoagulants on the NBT-Test. Scand. J. Inf. Dis. 5; 67 - 70, 73

(71) Hellum, K. B., Solberg, C. O.: Positive N.B.T. Test in acute viral Hepatitis. The Lancet, 1; 1181, 73

(72) Hellum, K. B., Solberg,C. O.: N.B.T. Test in Pulmonary Embolism and Bacterial Pneumonia. The Lancet, Dec. 28; 1575 - 1576, 74

(73) Heyne, K., Preising, E., Hitzig, W. H.: Rapid and Simple Microtest for the Diagnosis of Chronic Granulomatous Disease (NBT Test with Candida Albicans). Europ. J. Clin. Invest. 3; 399 - 400, 73

(74) Hitzig, W. H.: Gesunde und kranke Phagozytose: Theorie, Klinik u. Laboratoriumsdiagnose. Triangel, Band 12, Nr. 2; 73

(75) Homan-Müller, J. W. T., Weening, R. S., Roos, D.: Production of hydrogen peroxide by phagocytizing human grnulacytes. J. Lab. Clin. Med., Vol. 85, No 2; 198 - 207, 75

(76) Humbert, J. R., Kurtz, M. L., Hathaway, W. E.: Increased Reduction of NBT by Neutrophils of Newborn Infants. Pediatrics 45; 125, 70

(77) Humbert, J. R., Melvin, M., Hathaway, E., Thoren, Ch.: The Histochemical NBT Reducton Test in the Defferential Diagnosis of acute infections. Pediatrics, 48, No 2; 259-267, 71

(78) Humbert, J. R., Gross, G. P., Vatter, A. E., Hathaway, W. E.: NBT reduction by neutrophils, Biochemical and ultrastructural effects of methylene blue. The Journal of Lab. and Clin. Med. 82; 20 - 30, 73

(79) John, M. Oppermann, J.: Der spontane NBT-Test in Granulozyten von Patienten mit juveniler Rheumatoid-Arthritis. Zeitschrift für Rheumatologie, Band 34, Heft 9/10; 336 - 341, 75

(80) Lange-Wantzin, G., Wantzin, J.: The NBT Test: Erratic Behaviour in Acute Leukaemia. Blut, Band 31, 133 - 142, 75

(81) Lapes, M., Desai, A., Rosenzweig, M., Smalley, R., Barbieri, B.: Bone-marrow response to endotoxin-stimulated nitroblue tetrazolium. The New Engl. J. of Med. Dec. 6; 1255 - 1256, 73

(82) Lauter, C. B., Riad el Khatib, James, Rising, Robin: The NBT Test and Acute Myocardial Infarction. Annals of Internal Medicine 79; 59 - 62, 73

(83) Lenny, W., Suvatte, V., Tuchinda, S.: N.B.T. Test in overwhelming Bacterial Infection. The Lancet, Aug. 24; 465 - 466, 74

(84) Liakakos, D., Vlachos, P.: NBT Test in Thalassemia. The Journal of Pediatrics, Febr.; 352 - 353, 73

(85) Magliulo, E., Scvola, D. Bertotto, A., Concia, E., Faga: Differential N.B.T. Test. The Lancet, Apr. 27; 809 - 810, 74

(86) Mandell, G. L., Rubin, W., Hook, E.: The Effect of an NADH Oxidase Inhibitor (Hydrocortisone) on Polymorphnuclear Leukocyte Bactericidal Activity. The Journal of Clinical Investigation, 49; 1381 - 1388, 70

(87) Mandell, G. L., Fuller, L. F.: NBT Dye Test; A diagnostic aid in Tuberculosis. Am. Review of Respiratory Disease, 105; 123 - 125, 72

(88) Matula, G., Peterson, P. Y.: Spontanous In Vitro Nitroblue Tetrazolium Reduction: A Discriminatory Test for Bacterial Infection in Adults. Journal of Clin. Invest. 49, 62 a (Abst.); 70

(89) Matula, G., Peterson, P. Y.: Spontanous in Vitro Reduction of NBT By Neutrophils of Adult Patients with Bacterial Infection. The New Engl. Journal of Medicine, 285, No 6; 311 - 317, 71

(90) Matula, G., Peterson, P. Y.: N.B.T. Tests in a Patient on Steroids. The Lancet 1; 803, 71

(91) McCall C. E., De Chatelet, Cooper, Shannon: Human Toxic Neutrophils. III Metabolic Characteristics. The J. of Inf. Dis., 127, No 1; 26 - 33, 73

(92) McCall, C., De Chalelet, L. R., Butler, R., Brown, D.: The Biologic Basis for the eleveted histochemical NBT Reaction. the Journal of Clinical Investgation, 54; 1227 - 1234, 74

(93) Miller, D. R., Kaplan, H. G.: Decreased NBT Dye Reduction in the Phagocytes of Patients Receiving Prednisone. Pediatrics, 45, No 4; 861 - 865, 70

(94) Miller, R. M., Garbus, J., Schwartz, A. R., DuPont, H., Levine, M. M., Clyde, D. F., Hornick, R. R A Modified Leukocyte NBT Test in Acute Bacterial Infection. Am. J. Clin. Path. 66; 905 - 910, 76

(95) Nathan, D. G., Baehner, R. L., Weaver, D. K.: Failure of NBT Reduction in the Phagocytic Vacuoles of Leukocytes in CGD. The J. of Clin. Invest., 48; 1895 - 1904, 69

(96) Nathan, D. G.: NBT Reduction by Human Phagocytes. The New Engl. J. of Med., 290; 280 - 281, 74

(97) Nathan, D. G.: N.B.T.-Tests. The Lancet, Jan. 25; 225, 75

(98) Neuwirtowa, R., Setkova: Re-Evaluation of N.B.T. Test. The Lancet, Apr. 6; 633, 74

(99) Neuwirtowa, R., Setkova: NBT and cell clumping. The New Engl. J. of Med., May 3; 970, 73

(100) Ng, R. P., Chan, T. K., Todd, D.: NBT-Test-False-Negative and False-Positive Results. Lancet 1; 1341 - 1342, 72

(101) Ninane, G., Schmitz, A.: Specificity of N.B.T. Test. The Lancet, July 20; 174, 74

(102) Norden, C. W., Reese. R.: Oral Contraceptives and NBT-Test. The New Engl. J. of Med., Aug., 254, 72

(103) Okamura, K., Kato H., Matsuda, N., Takahashi: An Improved NBT Test and its Correlation with Toxic Neutrophils. Am. J. Clin. Path., 62; 27 - 31, 74

(104) Pachman, L. M., Jayanetra, P., Rothberg, R.: Rheumatoid Sera and Solubile Complexes NBT Dye Test and Hexose Monophosphate Shunt Activation. Pediatrics, 52, No6; 823 - 830, 73

(105) Palmer, L. D.:Abnormalities of NBT Reduction in Leukocytes of Patients with Alcoholism. Am. J. Clin. Path., 62; 515 - 519, 74

(106) Park, B. H., Fikrig, S. M., Smithwick, E. M.: Infection and NBT Reduction by Neutrophils, A Dianostic Aid. The Lancet 1; 535, 68

(107) Park, B. H., Holmes, B. H., Rodey, G. E., Good, R. A.: NBT Test in children with fatal CGD and newborn infants. The Lancet, 1; 157, 69

(108) Park, B. H., Holmes, B., Good, R. A.: Metabolic activities in leukocytes of newborn infants. The Journal of Pediatrics, 76, No 2; 237 - 241, 70

(109) Park, B. H., Good, R. A.: NBT-Test Stimulated. The Lancet 2; 616, 70

(110) Park, B. H., South, Barrett, Montgomery, Heim, Good: The use of the NBT Reduction Test in Diagnosis and Treatment of Bacterial Endocarditis. Pediatr. Res. 4; 463, 70

(111) Park, B. H.: The Use and limitations of the nitroblue trtrazolium test as a diagnostic aid. The Journal of Pediatrics 78; 376 - 378, 71

(112) Praharai, K. C., Nathsharma, K. C., Raghavendra, R. E.: Rapid Differentiation of Meningitis by NBT Test. Indian Pediatrics 13 (9); 697 - 700, 76

(113) Preisig, E., Hitzig, W. H.: NBT Test for the Detection of Chronic Granulomatous Disease - Technical Modification. Europ. J. Clin. Invest. 1; 409 - 412, 71

(114) Pujol - Moix, M. N.: N.B.T. Test in Malaria. The Lancet, 2; 871 - 872, 71

(115) Pujol - Moix, M. N.: NBT Reducing Capacity of Neutrophils in Diabetes. The New Engl. Jour. of Med. Oct. 25; 920, 73

(116) Ramsdale, E. M., Mowbray, J. F:: Positive N.B.T. Tests in Pregnancy. The Lancet, Jun.; 1246, 73

(117) Ridgway, G. L., Johnson, W.: The NBT Test in systemic bacterial Infection. The Lancet, 1; 1180, 73

(118) Roberts, M. M., Freeman, R., King, B., Mostoufi, K., Cotterill, J. A.: NBT Test in Psoriasis. The Lancet, May 2; 940 - 941, 74

(119) Rowan, R. M., Gordon, A. M., Chandhuri, Moran: A Further Application of the NBT Test. British Medical Journal, 3; 317 - 319, 74

(120) Rubinstein, A., Pelet, B.: False-Negative N.B.T. Tests Due to transient Malfunktion of Neutrophils. The Lancet, Febr. 17; 382, 73

(121) Sbarra, A. J., Karnovsky, M. L.: The Biochemical Basis of Phagocytosis I Metablic changes during the ingestion of particles by polymorphnuclear leukocytes.J. Biol. Chem.234; 1355, 59

(122) Schmidt, G. K., Klitgaard, N. A., Simonsen, E. E., Mortensen, O. K.: The Diagnostic Value of the NBT-Test in the Case of Febrile Diseases. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 34; 83 - 90, 74

(123) Segal, A. W., Trustey, S. F., Levi, A. J.: Re-Evaluation of the NBT-Test. The Lancet 2; 879 - 883, 73

(124) Segal, A. W., Levi, A.: The mechanism of the entry of dye into neutrophils in the NBT-Test. Chlin. Sc. and Mol. Med. 45; 817 - 826, 73

(125) Segal, A. W., Levi, A. J.: Further Application of the NBT Test. British Medical Journal, 7. Sept; 629, 74

(126) Segal, A. W.: NBT Test. The Lancet, Nov. 23; 1248 - 1252, 74

(127) Segal, A. W., Levi, A. J.: Cell Damage and Dye Reduction in the Quantitative NBT Test. Clin. exp. Immunol., 19; 309 - 318, 75

(128) Segal, A. W., Levi, A. J.: Factors influencing the entry of dye into neutrophil leukocytes in the NBT test. Clin. Sc. and Mol. Med., 48; 201 - 212, 75

(129) Segal, A. W., Peters, T. J.: The nylon column dye test: an possible screening of phagocyte function. Clin. Sc. and Mol. Med., 49; 591 - 596, 75

(130) Shafar, J., Behr, G., Rusius, J.: The NBT test following acute myocardial infarction. J. Clin. Path., 27; 399 - 401, 74

(131) Shapera, R. M., Matsen, J.: NBT Dye Reduction by Neutrophils From Patients with Streptococcal Pharyngitis. Pediatrics, 51, No 2; 284 - 287, 73

(132) Sher, R., Anderson, E., Meyers, A. M., Rasbkin, A., Kvornhoy, H. J.: The Qualitative NBT test as a means to differentiate between infection and rejection in renal transplant patients. Clinical Nephrology, 4, No 1, 8- 12. 75

(133) Sieber, O. F., Wilka, M. L., Riggin, R.: Elevated NBT Dye Reduction Test Response in Acute Viral Respiratory Disease. Pediatrics, 58, No 1; 122 - 124, 76

(134) Silva, J., Hoogerland, D., Fecety, R.: Quantitative NBT Test in Febrile Patients. Arch. Intern. Med., 135; 1569 - 1574, 75

(135) Silverman, E. M., Reed, R. E.: The NBT Test in Lymphoma. Am. J. Clin. Path., 59; 198 - 201, 73

(136) Solanki, D. L., Cregan, B.: N.B.T. Test in Pregnancy. The Lancet, Jan. 4; 43, 75

(137) Soonattrakul, W., Andersen, B.: Diagnostic Accuracy of the NBT-Test. Arch. Intern. Med., 132; 529 - 532, 73

(138) Soonattrakul, W., Andersen, B.: NBT Test in Lymphomas. The New Engl. J. of Med., Jan. 25; 218, 73

(139) Sramkova, L., Prochazkova, E.: Die alkalische Phosphatase in neutrophilen Leukozyten bei Infektionskrankheiten. Schweizerische Medizinische Wochenschrift, Nr. 35, Bd. 98, 1325 - 1329, 68

(140) Steigbigel, R. T., Johnson, P. K., Remington, J. S.: The NBT Reduction Test versus Conventional Hematology in the Diagnosis of bacterial Infection. The New. Engl. J. of Med., 290, No 5; 235 - 238, 74

(141) Stossel, T.: Evaluation of Opsonic and Leukocyte Funktion with a Spectrophotometric Test in Patients with Infection and with Phagocytic Disorders. Blood, 42, No 1; 121 - 130, 73

(142) Strauss, R. R., Paul, B. B., Sbarra, A. J.: Effect of Phenylbutazone on Phagozytosis and Intracellular Killing by Guinea Pig Polymorphonuclear Leukocytes. Journal of Bacteriology, 96, No 6; 1982 - 1990, 68

(143) Strukelj, M., Zemva, M.: Modification of N.B.T. Test. The Lancet, Jan. 20; 149, 73

(144) Sullivan, Dolau, Meyers, Treat, Haven, Conn: Use of the NBT Dye Test. Am. J. Dis. Child, 125; 702 - 704, 73

(145) Tau, Rosner, Feldman: NBT Dye Reduction in various hematologic disorders. New York State Journal of Medicine, April 15; 952 - 956, 73

(146) Vaucher, Wyss, Thevoz, Knöpfel, Miescher: La réduction du NBT par les granulocytes dans divers etats clinique. Schweiz. med. Wschr., 100; 2248 - 2251, 70

(147) Vega, De Lalla, G., Freyre-Horta, R., Benitez-Biorisca, L.: Plasma Factor Effecting The NBT Reducing Capacity of Neutrophils. The New Engl. J. of Medicine, August, 2; 271 - 272, 73

(148) Vickers, P. J., Hayes, J. P.: N.B.T. Test. The Lancet, September 29; 738 - 739, 73

(149) Wajima, T.: NBT Test in Patients with Sickle-cell Anemia. Am. J. Clin. Path., 64; 608 - 612, 75

(150) Walters. R. Th., Reddy, N. B.: Sickle cell anemia and the NBT test. J. Clin. Path., 27, 738 - 785, 74

(151) Ward, M., Eastwood, M. A.: The NBT Test in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. Digestion 14; 179 - 183, 76

(152) Wardle, E. N.: N.B.T. Test and Endotoxaemia. The Lancet, Jan. 25; 225, 75

(153) Weening, R. S., Wever, R., Roos, D.: Quantitative aspects of the production of superoxide radicals by phagocytizing human granulocytes. J. Lab. Clin. Med., 85, No 2; 245 - 252, 75

(154) Wenger, M. E., Bole, G. G.: NBT dye reduction by peripheral leukocytes from rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus patients mesured by a histochemical and spectrophotometric method. J. Lab. Clin. Med., 82, No 3; 513 - 521, 73

(155) Wenger, M. E., Bole, G. G.: NBT Test in systemic Lupus. The New Engl. J. of Med. Nov. 30; 1150, 72

(156) Winchester, J. F., Gordon, A. M.,Rowan,R. H., Lindsay: Interpretation of the NBT Test in Regulary Dialysed Patients. The Lancet, Aug.; 292, 73

(157) Wollman, M. R., Brennan, L. B., Stenzel, K. M., David, D. S., Levy, J. E., Rubin, A. L., Miller: The NBT Test, Usefullness in Detecting Bacterial Infections in Uraemic and Immunossuppressed Renal Transplant Patients. The Lancet, Aug. 12; 289 - 292, 72

(158) Zwibel, H. L., Schwartzman, R. G.: Evaluation of the NBT Test as applied to polymorphnuclear leukocytes in the cerebrospinal fluid. Neurology, Okt., 995 - 997, 74

(159) The NBT Test. CMA Journal, March 16, 110; 612, 74

(160) Editorial: Nitroblue Tetrazolium: a Routine Test? Lancet, 2; 909 - 910, 71

(161) Disorders of Neutrophil Funktion. The Lancet, 1; 438, 74

(162) Another Look at the N.B.T. Test. The Lancet, Apr. 13; 664 - 665, 74

Herrn Prof. Dr. D. Janz und Ass. Prof. Dr. H.W. Kölmell möchte ich für die Überlassung des Themas und für ihre nützlichen Anregungen bei der Fertigstellung dieser Arbeit Arbeit danken.

Mein besonderer Dank an dieser Stelle gilt Frau Christine Ligner für ihre unermüdliche Hilfe bei der technischen Durchführung der Experimente.

Lebenslauf

Name: Egri

Vorname: Thomas

Geburtsdatum: 6.3.50

Geburtsort: Satu Mare/Rumänien

1951: Tod des Vaters

1956: Einschulung in Satu Mare

1964: Übersiedlung meiner Familie nach Berlin

1967: Einbürgerung in die BRD

1970: Abitur an der Hermann-Hesse-Oberschule in Berlin 61

1970/71: Beginn des Medizinstudiums an der FU in Berlin

1973: Ärztliche Vorprüfung in Berlin

1977: Ärztliche Prüfung in Berlin

April-Juli: Med.Ass.an der Inneren Abteilung des AVK

Sept.-Dez.: Med.Ass. an der Chirurgischen Abteilung des AVK

Jan.-April 78: Med.Ass. an der Neurologischen Abteilung im Klinikum Charlottenburg